



**Universidad Nacional Autónoma de México
División de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina**

Hospital Infantil de México Federico Gómez

**Rendimiento diagnóstico de marcadores biológicos en
sepsis neonatal**

T E S I S

Para obtener el título de especialista en:

P E D I A T R Í A

Presenta:

Dr. Daniel Omar Ocampo Flores

Director de tesis: Dr. Sarbelio Moreno Espinosa



Ciudad de México, febrero de 2019



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.

Hoja de Firmas

Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico

Tutores:



M en C. Dr. Sarbelio Moreno Espinosa
Jefe de Departamento de Infectología



M en C. Dr. Rodolfo Jiménez Juárez
Jefe de Servicio de Infectología
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dedicatorias

A mi madre, Verónica, por ser siempre un apoyo incuestionable y por su innegable importancia en mi formación personal y profesional.

A mi padre, Juan, por predicar con el ejemplo que el trabajo duro y la constancia son los preceptos fundamentales para el éxito.

A Alan, por ser además de un gran hermano, persona y profesionalista, un extraordinario amigo.

A mis amigos y compañeros de la residencia, pues sin su compañía y entusiasmo, estos tres años hubieran sido inimaginablemente más largos y definitivamente menos llevaderos.

A la Dra. Edna Vázquez, por su paciente enseñanza y su habilidad para orientar a un confundido residente durante los primeros momentos de su tambaleante introducción a la
Pediatria.

Al Dr. Sarbelio Moreno y al Dr. Rodolfo Jiménez, excepcionales médicos y tutores, por su siempre entusiasta e inspiradora instrucción.

A Edmedt, por ser desde el primer momento de mi formación, un modelo a seguir como residente, pediatra, persona y amiga.

A todos aquellos padres, madres y niños que tuve la fortuna de conocer, cuya fortaleza de carácter y su infranqueable deseo por vivir, son una fuente de motivación para seguir adelante.

A Marina, por ser una constante inspiración, un apoyo incondicional y mi más grande razón para ser mejor cada día.

Índice

Portada	1
Hoja de firmas	2
Dedicatorias	3
Índice	4
Resumen	5
Introducción	8
Antecedentes	10
Marco teórico	12
Planteamiento del problema	22
Pregunta de investigación	22
Justificación	23
Objetivos	24
Métodos	25
Descripción de variables	27
Plan de análisis estadístico	28
Consideraciones éticas	29
Análisis de resultados	31
Discusión	44
Conclusión	45
Limitaciones del estudio	47
Cronograma de actividades	48
Referencias bibliográficas	49
Anexos	50

Resumen

La sepsis neonatal es una entidad patológica que se presenta de forma universal, con variación en su incidencia y mortalidad dependiendo del país donde se reporte, pero que continúa siendo un importante problema en salud pública y una de las principales causas de mortalidad neonatal prevenible. La alta tasa de mortalidad asociada (hasta 30%), es un fenómeno multifactorial, asociado al deficiente acceso a servicios de salud en diversas poblaciones, factores propios del recién nacido (mayor labilidad térmica, hemodinámica, inmadurez inmunológica), o del organismo causal (virulencia, sitio primario de infección, resistencia antibiótica) así como el retraso en el diagnóstico y tratamiento.

A pesar de ser una entidad frecuente, las manifestaciones clínicas pueden ser tanto variables como inespecíficas. El recién nacido febril suele ser la forma más frecuente de presentación y la que más orienta al médico a realizar un abordaje en afán de aislar un organismo patógeno. Sin embargo, síntomas como irritabilidad excesiva, llanto inconsolable y agudo, rechazo a la alimentación, alteraciones del estado de alerta o signos como hipotonía, ictericia, hiporreactividad o pobre succión deben ser extensamente estudiados en un recién nacido, especialmente si éste cuenta con factores de riesgo (prematurez, ruptura prematura de membranas, corioamnionitis o fiebre materna, asilamiento de *S. agalactiae* en cultivos cervicales, infección urinaria periparto, ruptura prematura de membranas, entre otras) para el desarrollo de sepsis neonatal.

Con el desarrollo de la biología molecular, ha sido posible un entendimiento más profundo de su fisiopatología, la activación celular y producción de citosinas durante dicho proceso, lo cual ha resultado en el advenimiento de marcadores bioquímicos viables para la detección y el diagnóstico precoz de la sepsis neonatal. Marcadores como factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), proteína C reactiva (PCR) y procalcitonina (PCT) son algunos de los candidatos potenciales por su presencia temprana y su relevancia durante la respuesta Th1 de la respuesta celular a los antígenos bacterianos. Si bien, su elevación y detección en un caso de sospecha de sepsis neonatal podría ser de gran utilidad en el abordaje diagnóstico y en el proceso terapéutico, aún debe establecerse la validez y relevancia, así como el alcance específico de cada uno de los diversos marcadores. Además, gran parte de las citosinas requieren de herramientas técnicas de poca accesibilidad y alto costo para su determinación, por lo que podrían considerarse imprácticas en muchos de los servicios sanitarios donde se planea su implementación.

Existen múltiples estudios que buscan demostrar la eficacia de uno o la combinación de más de una citosina en el diagnóstico temprano de la sepsis neonatal, encontrando gran variabilidad en los resultados. Por ejemplo, Benitz et al¹, demostraron la efectividad de la procalcitonina en el diagnóstico de la sepsis neonatal y la PCR como un marcador eficaz en el seguimiento de la respuesta a tratamiento, siempre que existieran hallazgos clínicamente significativos durante su valoración. Genesan et al valoraron la elevación de PCR e IL-6 de forma concomitante, reportando una sensibilidad y especificidad de 80 y 65% para PCR, 100% y 62,8% para IL-6 y 100% y 75.7% combinando ambos marcadores².

El propósito de este estudio es valorar la elevación de la PCR sola o en asociación a hallazgos patológicos en la biometría hemática inicial (leucopenia o leucocitosis, bandemia, trombocitosis o trombocitopenia) en pacientes que ingresan con sospecha de sepsis neonatal, realizando una comparación de su efectividad respecto a marcadores como PCT y particularmente con la presencia de aislamiento bacteriano en cultivos de fluidos corporales (sangre, orina, heces, líquido cefalorraquídeo). Se buscará determinar si la presencia de alteraciones bioquímicas que se presentan a la par con el proceso infeccioso presentan sensibilidad o especificidad adecuada para modificar la conducta terapéutica en el paciente con sospecha de sepsis neonatal.

Se tomará como población los recién nacidos con sospecha de sepsis neonatal valorados por el servicio de Neonatología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, que se ingresan para valoración diagnóstica y tratamiento. Se valorarán criterios clínicos, valores alterados en la biometría hemática al ingreso, niveles de pro calcitonina y proteína C reactiva a las 48h, además de registrar el crecimiento en cultivos de sangre periférica, orina y líquido cefalorraquídeo (según lo amerite el caso) para determinar con fiabilidad la presencia de sepsis y el aislamiento de microorganismos en cultivos.

Una vez confirmado el diagnóstico de sepsis, se realizará un análisis comparativo de los casos de sepsis con aislamiento microbiológico, aquellos con sólo con criterios clínicos de sepsis y con cultivos negativos, comparando anomalías en biometría hemática, niveles de pro calcitonina y proteína C reactiva, al ingreso y a las 48h. Se valorará la sensibilidad y especificidad de los niveles de PCR al ingreso, a las 24 horas de forma aislada y en comparación con hallazgos en la biometría hemática.

¹Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998;102:E41.

² Genesan H., Shanmugam P., Abdul Sattar S., Evaluation of IL-6, CPR and hs CPR as early biomarkers of neonatal sepsis, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2016, Vol 10-(5)

El objetivo final del trabajo consiste en determinar si la presencia de una biometría hemática normal (sin leucopenia, trombocitopenia u otros hallazgos anormales atribuibles a infección, como el aumento en la cantidad de formas inmaduras o el aumento o disminución significativas del recuento leucocitario durante el curso clínico) y valores normales de PCR sean estadísticamente significativos para descartar la presencia de sepsis, en un paciente sin otros hallazgos clínicos o bacteriológicos de sepsis.

Introducción

La sepsis neonatal se define como la presencia de síntomas de respuesta inflamatoria sistémica (taquicardia o bradicardia, taquipnea o bradipnea, distermia, leucocitosis y presencia de formas inmaduras (bandas) en la biometría hemática) en presencia de infección o sospecha de la misma durante el primer mes de vida extrauterina. La sepsis severa, a su vez, se presenta con signos clínicos de sepsis más presencia de hipoperfusión tisular o disfunción orgánica; el choque séptico aparece cuando existe hipotensión originada por el proceso patológico, que persiste a pesar del manejo hídrico. La sepsis aparece como una respuesta exacerbada y descontrolada de la respuesta del sistema inmunológico, que produce daño tisular y perpetúa el daño inicialmente provocado por el proceso infeccioso.

A pesar de su frecuencia, el diagnóstico de la sepsis neonatal es un problema complejo, tanto por la presencia de signos y síntomas clínicos inespecíficos o sutiles y en ocasiones, la falta de acceso universal a auxiliares diagnósticos. La pobre disponibilidad de herramientas diagnósticas conlleva a que el diagnóstico frecuentemente sea basado exclusivamente en criterios clínicos, al no poder ser demostrable un proceso infeccioso en forma del aislamiento de organismos patógenos en cultivo de líquidos corporales (LCR, sangre u orina) o en su defecto, la presencia de marcadores bioquímicos que orienten de forma objetiva, la presencia de un proceso inflamatorio en un recién nacido con sospecha de un foco infeccioso. Los auxiliares diagnósticos en la sepsis neonatal avanzan a la par de la tecnología y se comprende un poco más la fisiopatología y el proceso inflamatorio secundario a la sepsis, utilizando en ocasiones nuevos marcadores celulares como citosinas e interleucinas específicas en la respuesta inmunitaria secundaria a la sepsis.

Sin embargo, estos marcadores bioquímicos se encuentran aún en proceso de validación como herramientas útiles en el diagnóstico temprano de la sepsis en recién nacidos. Un marcador diagnóstico ideal debería ser altamente sensible y específico y tener un adecuado valor predictivo positivo y negativo, además de ser accesible. A pesar de los múltiples avances en el entendimiento y diagnóstico de la sepsis neonatal y el desarrollo consecuente de nuevos marcadores diagnósticos, aún no existe una prueba diagnóstica 100% sensible y específica que permita mejorar el curso clínico y plan terapéutico en recién nacidos con sospecha de sepsis. Diversos estudios han mostrado la confiabilidad diagnóstica de nuevos marcadores bioquímicos. Por ejemplo, la PCR presenta una sensibilidad de entre el 60 a 82%, especificidad de 93 a 96%, VPP 95 a 100% y VPN de 75 a 87%. La PCT tiene sensibilidad reportada de 82 a 100%, especificidad de 87 a 100%, VPP de 86 a 98%, VPN 93 a 100%. La IL-6 tiene una

sensibilidad de 67 a 89%, especificidad de 89 a 96%, VPP 84-95%, VPN 77 a 91% y la IL-8 sensibilidad de 80 a 91%, especificidad de 76 a 100%, VPP 70-74%, VPN 91-95%³.

Aún no es posible encontrar un marcador (o la combinación de más de uno de éstos) para el diagnóstico temprano de la sepsis neonatal. El cultivo de sangre continúa siendo el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis, aunque presente una sensibilidad de aproximadamente 80%. La prueba diagnóstica ideal debería contar con una sensibilidad y especificidad cercana al 100%, para identificar correctamente con una prueba positiva a aquellos recién nacidos con sepsis y negativa en aquellos en que la enfermedad se encuentra descartada. Algunas técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa se acercan a dicha meta, pero por el momento, no son herramientas clínicamente accesibles para su uso como auxiliar diagnóstico.

³ Mishra UK, Jacobs SE, Doyle LW, et al. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2006; 91:F208–F212.

Antecedentes

El estudio de la sepsis neonatal se ha realizado de forma extensa por su frecuencia y mortalidad. Existe una gran cantidad de información respecto a los factores de riesgo, fisiopatología, agentes bacterianos implicados, herramientas diagnósticas y tratamiento antibiótico. Las investigaciones sobre la base molecular de la sepsis neonatal han resultado en mejorar el entendimiento de los factores implicados y se ha indagado el uso de estas moléculas como marcadores bioquímicos para mejorar el rendimiento diagnóstico en la sepsis neonatal. Algunas de ellas habían sido previamente utilizadas en estudios en pacientes adultos, buscando actualmente aterrizar su aplicación en la población pediátrica, específicamente en el periodo neonatal. Sin embargo, debido a las diferencias en la actividad inmunológica y la respuesta a un estímulo infeccioso en la fisiología neonatal, se han llevado a cabo estudios en pacientes recién nacidos para validar su utilidad como herramientas diagnósticas.

Ganesan P, Shanmugan P. et al⁴, llevaron a cabo un estudio en 80 neonatos, 40 de ellos con criterios clínicos de sepsis y 40 controles sanos. Se excluyeron aquellos con malformaciones congénitas y con antecedente de cirugía por el riesgo de falsos positivos. La medición de IL-6 se llevó a cabo mediante técnica de ELISA y la PCR por inmunofluorescencia. Se encontró un aislamiento de organismos en cultivos de sangre en el 25% de los casos. Tomando como punto de corte un valor de PCR mayor a 13.49mg/L, se encontró una sensibilidad del 80% y especificidad de 65.7%, mientras que la IL-6 (con un punto de corte de 51.3pg/ml), presentó una sensibilidad y especificidad de 100% y 2.8% respectivamente.

Benitz W., Han M., et al⁵, realizaron un estudio retrospectivo de recién nacidos en un hospital pediátrico de Palo Alto, California, con una población de 1002 neonatos. Se clasificaron como neonatos con sepsis confirmada (con cultivos bacteriológicos positivos), sepsis probable (sólo hallazgos clínicos, pero sin aislamiento de organismo en cultivos) y sin sepsis. De forma independiente se realizaron tres determinaciones de PCR sérica al momento del ingreso y posteriormente 24 y 48 horas después. La medición de las tres PCR en conjunto reportó una sensibilidad de 97.8% en casos de sepsis confirmada y 98.1% en casos probables o confirmados. De las mediciones, aisladas, la segunda medición, a las 24 horas del ingreso, fue la que reportó una mayor sensibilidad, con 78.9% en casos confirmados y 92.9% en casos

⁴ Ganesan H., Shanmugam P., Abdul Sattar S., *Evaluation of IL-6, CPR and hs CPR as early biomarkers of neonatal sepsis*, Journal of Clinical and Diagnostic Research, 2016, Vol 10-(5).

⁵ Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. *Serial serum C reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection*. Pediatrics 1998;102:E41.

probables o confirmados. El valor predictivo negativo de las mediciones seriadas fue de 99.7% en sepsis temprana y 98.7% en casos de sepsis neonatal tardía.

Hissamuddin E, Hisam A., et al⁶ realizaron un estudio en 147 recién nacidos con sospecha de sepsis. Se realizó cultivo sanguíneo y toma de PCR en todos los pacientes. Reportan un aislamiento de organismo en cultivos de 29.2% y PCR con sensibilidad y especificidad de 76.9% y 53.5% respectivamente, así como un valor predictivo positivo de 80% y valor predictivo negativo de 48.9%. Dichos valores estadísticos muestran que la PCR tiene un papel relevante en la sepsis neonatal, sin ser útil como único marcador diagnóstico en la sepsis neonatal.

La mayoría de los estudios valoran los valores de PCR de forma aislada, en combinación con otros marcadores bioquímicos o de forma seriada para detectar la presencia de sepsis neonatal. La sensibilidad y especificidad reportada es variable dependiendo del momento de su determinación y su asociación con otras moléculas. Por tanto, el rol de la PCR como marcador puede ser mejorado al utilizarla a la par de otros estudios para mejorar el rendimiento diagnóstico en la sepsis neonatal.

⁶ Hissamuddin E, Hisam A, Wahid S, Raza G. *Validity of C-reactive protein (CRP) for diagnosis of neonatal sepsis*. Pak J Med Sci 2015;31(3):527-531. doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.313.6668>.

Marco teórico

1. Definición

La sepsis neonatal se define como la presencia de síntomas de respuesta inflamatoria sistémica (taquicardia o bradicardia, taquipnea o bradipnea, distermia, leucocitosis y presencia de formas inmaduras (bandas) en la biometría hemática) en presencia de infección o sospecha de la misma durante el primer mes de vida extrauterina. La sepsis severa, a su vez, se presenta con signos clínicos de sepsis más presencia de hipoperfusión tisular o disfunción orgánica; el choque séptico aparece cuando existe hipotensión originada por el proceso patológico, que persiste a pesar del manejo hídrico⁷.

La sepsis neonatal temprana tiene diversas definiciones, de acuerdo a las fuentes consultadas. Se define como la presencia de sepsis durante las primeras 72 horas de vida (aunque algunos autores la definen como la infección durante la primera semana de vida). En este trabajo, se considerará sepsis neonatal temprana a aquella presente dentro de los primeros 7 días de vida extrauterina. La sepsis neonatal tardía se presenta después de 72 horas (o los primeros 7 días) hasta los 3 meses de vida⁸.

2. Epidemiología

Los procesos infecciosos encabezan la lista de causas de mortalidad infantil en el mundo. Su aparición se encuentra condicionada por múltiples factores propios de la región geográfica, factores asociados al embarazo y el nacimiento (ruptura de membranas prolongadas, madre con comorbilidades, prematurez del producto, bajo peso al nacimiento, acceso a los servicios de salud, entre otros) y la microbiología predominante en cada localidad. Por tanto, la frecuencia de la sepsis neonatal se presenta y se reporta de manera diferente en cada país (e incluso dentro de distintas regiones dentro de cada nación). Mundialmente se reportan aproximadamente 4 millones de muertes neonatales alrededor del mundo, 35% de ellas atribuibles a infecciones. Si bien, en Estados Unidos, se estima una incidencia de 1-2 casos por

⁷ Gleason C., *Avery, diseases of the newborn*, 9° edition, Elsevier, 2012, Philadelphia, United States of America.

⁸ Rodríguez, W. *Neonatología Clínica*, 1° edición, McGraw Hill, 2004, México.

cada 1000 recién nacidos vivos⁹, en países en vías de desarrollo, la incidencia es razonablemente más alta, con 2.2 a 9.8 casos por cada 1000 recién nacidos vivos (otras fuentes reportan tasas de hasta 15 a 30 casos por 1000 recién nacidos); en México, la sepsis neonatal temprana representa la segunda causa de muerte en el periodo neonatal (12.3%) en los recién nacidos durante la primera semana de vida, con una mortalidad de hasta 20 a 30%¹⁰. Es, por ende, un problema importante de salud pública, que se presenta de forma frecuente en los servicios de salud tanto de primer contacto hasta en Institutos Nacionales de Salud como en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, lo cual refleja tanto la frecuencia como la importancia del diagnóstico y tratamiento temprano de la sepsis neonatal en México. Sin embargo, la epidemiología de esta patología es un elemento altamente variable, con cambios en incidencia, mortalidad y mortalidad de acuerdo a los factores maternos, neonatales, así como la disponibilidad de los servicios de salud. Este dinamismo incita a continuar el estudio y registro de los cambios epidemiológicos en la sepsis neonatal, para mejorar el diagnóstico, tratamiento y la sobrevida en los recién nacidos en México.

3. Fisiopatología

La sepsis es un proceso fisiopatológicamente complejo y parcialmente comprendido. En recién nacidos, los mecanismos innatos y adaptativos de la respuesta inmunológica y su traducción clínica son diametralmente diferentes a aquellos presentes en niños mayores, adolescentes y adultos. Aún más, el recién nacido pretérmino, conlleva una entidad clínica y patológicamente distinta en el rubro de la sepsis por la inmensa discrepancia incluso con el recién nacido de término. La base fundamental la sepsis es la respuesta anormal a un antígeno inmunogénico de un patógeno infeccioso, principalmente bacterias y sus derivados. Inicia con el abatimiento de los mecanismos primarios de defensa (barrera cutánea, pH gástrico, bibrisas nasales, vermix caseosa en recién nacidos de término, secreción glandular, etc.) e iniciando la activación (o en ocasiones evadiendo) los mecanismos de inmunidad primaria, como lo son el sistema de complemento, producción de proteínas de fase aguda e iniciando la quimiotaxis de neutrófilos, células presentadoras de antígenos y activación endotelial. Posterior a la presentación de antígenos, se reclutan linfocitos T (CD4 y CD8), quienes, dependiendo del tipo de antígeno presentado, realizan secreción de quimiocinas específicas y activación celular y

⁹ Gleason C., Avery, *diseases of the newborn*, 9° edition, Elsevier, 2012, Philadelphia, United States of America.

¹⁰ *Guías clínicas del departamento de Neonatología*, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, 2011.

humoral en respuestas específicas, conocidas como Th1 y Th2, que generan acción proinflamatoria y antiinflamatoria, respectivamente. La permeabilidad vascular local y la cuidadosa relación entre el proceso inflamatorio activo y su inactivación dan lugar a una respuesta local y erradicación efectiva de los estímulos nocivos hasta su completa desaparición o inactivación (fase latente). Sin embargo, existen diversos factores que favorecen la respuesta exacerbada o persistente del sistema inmunológico a un estímulo externo, como la presencia de superantígenos, el tamaño de inóculo o las características propias del antígeno (por ejemplo, antígenos lipídicos o antígenos proteicos), lo cual condiciona un estado patológico que repercute negativamente en el estado hemodinámico, sin poder reestablecer la homeostasis corporal. Dichos sistemas repercuten de forma sistémica, expresándose dentro de una amplia gama de manifestaciones que se conocen como sepsis. La activación endotelial y aumento de la permeabilidad vascular es responsable de procesos como la hipotensión, el llenado capilar inmediato y su repercusión en el choque séptico. Las citocinas proinflamatorias y las proteínas de fase aguda desencadenan la elevación de la temperatura corporal y generan el proceso febril característico de los fenómenos infecciosos (y su concomitante respuesta inflamatoria). Existen características propias del sistema inmunológico en recién nacidos que difieren enormemente con las estudiadas en niños o adultos. Por ejemplo, sin contar las infecciones congénitas, el contacto con cualquier patógeno durante el periodo neonatal representa el primer contacto con dicho organismo, resultando en la activación dominante del sistema inmune innato, pues no cuentan con la respuesta adaptativa desarrollada posterior al reconocimiento inicial de los antígenos bacterianos. Otra diferencia importante es la predominancia de la respuesta Th2 durante el periodo prenatal y que persiste durante el periodo neonatal. La respuesta Th2 favorece un efecto antiinflamatorio y genera la activación de células B y producción temprana de anticuerpos, lo que a su vez conlleva a una menor actividad inflamatoria dada por las células CD4 Th1, disminuyendo la respuesta celular, producción de citocinas y aumentando la susceptibilidad a infecciones. Es importante recalcar que, durante el periodo fetal, existe producción y maduración de la totalidad de las células implicadas en el sistema inmunitario adaptativo. El tejido embrionario paraaórtico inicia la producción de células hematopoyéticas pluripotenciales durante las primeras 4 semanas de gestación, continuando con su maduración en la médula ósea aproximadamente en la duodécima semana. Por su parte, el saco embrionario inicia la producción de eritrocitos y células fagocíticas a partir de la tercera semana de gestación, siendo posteriormente el hígado quien se encarga de su producción hasta la semana 20, a partir de la cual la médula ósea es el

principal órgano hematopoyético. A partir del segundo trimestre pueden encontrarse células maduras de los diversos linajes celulares hematopoyéticos¹¹.

La relativa predominancia de la respuesta celular antiinflamatoria Th2 refleja una parcial deficiencia en la respuesta celular en el recién nacido. Durante el periodo fetal, existe ya una respuesta a mitógenos, complejos mayores de histocompatibilidad (MHC) y alloantígenos, lo cual manifiesta cierta madurez en la respuesta celular. También, el número y función de las células de memoria CD8 es funcionalmente menor que en niño o adulto. Existe una producción menor de ciertas citocinas, como IL-12 e interferón gamma (INF-gamma), además de una menor respuesta a éstas y otros reactantes de fase aguda como el TNF-alfa. Las células NK aparecen en etapas tempranas de la gestación, llegando a niveles normales alrededor de la mitad del embarazo. Aproximadamente la mitad de dicha población se encuentra en etapas incompletas de maduración (CD56 negativas), con menor producción de INF-gamma y menor función citotóxica que las células adultas. Otros reactantes de fase aguda, como IL-6 o PCR se producen precozmente y alcanzan niveles similares a los del adulto desde las primeras horas de vida. En general, la actividad inmunitaria es inversamente proporcional a la edad gestacional del recién nacido¹².

Es por tanto de esperarse que los valores de referencia normales en la biometría hemática de un recién nacido sean distintos a los del lactante, niño o adulto. Al nacimiento se observa un aumento importante de polimorfonucleares, con un pico que aparece en las primeras 12 a 24 horas de vida, disminuyendo a las 72 horas en un recién nacido sin complicaciones (asfixia, sepsis, administración de fototerapia o fluidos IV, etc.) Ante la presencia de un proceso infeccioso, la respuesta del neonato varía respecto a lo observado en adultos o niños. Las formas inmaduras (bandas y metamielocitos), pueden constituir hasta el 15% de la población, sin esto representar un proceso patológico, representando una reserva que puede ser movilizada de forma rápida desde la médula ósea a sangre periférica durante un proceso infeccioso. Sin embargo, la producción de nuevos leucocitos polimorfonucleares se encuentra prácticamente cercana a la capacidad máxima, por lo que una vez que se utiliza esta reserva, el conteo leucocitario desciende de manera rápida y su recuperación es tardía. Por tanto, en presencia de una respuesta infecciosa en el recién nacido es más frecuente la presencia de leucopenia que la leucocitosis y bandemia observada en otras edades pediátricas en respuesta a una infección.

¹² Gleason C., *Avery, diseases of the newborn*, 9° edition, Elsevier, 2012, Philadelphia, United States of America

Una característica fundamental del sistema inmunitario del recién nacido es el impacto de los anticuerpos maternos que proporcionan inmunidad pasiva. Gran parte de la IgG circulante del recién nacido es de origen materno y es transferida a través de la circulación feto placentaria principalmente durante el tercer trimestre, iniciando alrededor de la semana 17 y llegando a un nivel meseta aproximadamente a las 33 semanas (con menor cantidad de IgG materna circulante en recién nacidos pretérmino). Después del nacimiento, al terminar la circulación materno-fetal, los niveles de IgG materna disminuyen de forma rápida durante los primeros 2 meses, depurándose completamente aproximadamente a los 12 meses, edad en la cual la totalidad de la IgG circulante es producida por el lactante. Es de radical importancia que la primoinfección materna durante el tercer trimestre del embarazo genera una menor producción de IgG protectora por la ausencia de células CD8 de memoria maternas, por lo que existe un mayor riesgo de infección neonatal en dichos casos (por ejemplo, infección por herpes virus simple, *S. agalactiae*, infecciones por *Toxoplasma gondii*, CMV, EB, virus de rubeola, etc.). El calostro y la leche materna también contribuyen, aunque en menor medida, a la transferencia pasiva de inmunoglobulina A¹³.

4. Factores de riesgo

Los factores de riesgo pueden clasificarse en maternos y neonatales. Dependiendo del momento de presentación, destaca la relevancia de cada uno de ellos. Por ejemplo, en la sepsis neonatal temprana, los factores de riesgo con mayor impacto son los asociados a la condición materna y del momento del nacimiento, como el antecedente de fiebre durante el trabajo de parto, criterios de corioamnionitis, ruptura prematura de membranas de más de 18 horas de evolución, infecciones urinarias o cervicovaginales de repetición, múltiples revisiones digitales durante el trabajo de parto, colonización materna asintomática por *E.coli* o *S. agalactiae*, estado socioeconómico y control prenatal pobre. Sin embargo, existen otros factores menos estudiados que también representan un aumento en el riesgo en la incidencia de sepsis. Pérez et al¹⁴, reportan que la edad materna menor a 15 años, el nacimiento por cesárea, calificación apgar menor a 7 en el primer minuto, edad gestacional menor a 32 semanas y peso menor a 2,500 gramos aumenta el riesgo de padecer sepsis entre una y trece veces que los neonatos sin dichos factores de riesgo. En dicho estudio, la fiebre materna

¹³ Rodríguez, W. *Neonatología Clínica*, 1° edición, McGraw Hill, 2004, México.

¹⁴ Pérez R., Lona J., Quiles M., Sepsis neonatal temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un hospital público del occidente de México, 2015, *Revista Chilena de Infectología*, 32 (4), 387-392.

durante el trabajo de parto y el diagnóstico de corioamnionitis representan un aumento de 27 y 34 veces el riesgo, respectivamente para la presencia de sepsis neonatal temprana.

En la sepsis neonatal tardía, la adquisición de la infección no se realiza a través del canal de parto, sino que se adquiere en la interacción entre el recién nacido y el medio ambiente que lo rodea. Los factores de riesgo son menos definidos que en la sepsis neonatal temprana. El contacto con personal de salud, los familiares, uso de biberones o fórmula contaminada, fómites o gotas respiratorias son las principales formas de contagio en los recién nacidos posterior a la semana de vida.

5. Manifestaciones clínicas

El recién nacido con un proceso infeccioso puede presentar un sinnúmero de manifestaciones clínicas, algunas de ellas propias de una respuesta inflamatoria (fiebre o distermia, taquipnea, taquicardia) y otras resultan del compromiso sistémico y la labilidad del neonato a la adaptación del medio interno durante la infección (dificultad respiratoria, ictericia, letargia, irritabilidad, anorexia o hiporexia, vómito, hipotonía, distensión abdominal, hipoglucemia, apneas, convulsiones, pobre succión, mal estado general). Muchas de las manifestaciones pueden encontrarse de forma aislada o como un conjunto inespecífico de signos y síntomas que podrían o no orientar a una infección como la primera sospecha diagnóstica. El recién nacido febril siempre debe considerarse potencialmente infectado, iniciando el abordaje diagnóstico y el tratamiento tan pronto se reciba en el servicio de Urgencias. Sin embargo, la presencia o antecedente de fiebre no es siempre es indicativo de un proceso infeccioso o sepsis. Así mismo, un paciente con síntomas inespecíficos, de acuerdo a sus factores de riesgo y forma de presentación, puede considerarse también como un paciente potencialmente infectado.

6. Bacteriología.

Hay una gran discrepancia entre los organismos implicados en la sepsis neonatal temprana y tardía. En la sepsis de inicio temprano la infección es adquirida de a través del canal de parto, por vía ascendente como en la ruptura prematura de membranas o por contacto con secreciones maternas contaminadas durante el nacimiento por vía vaginal (por ejemplo, en la cervicovaginitis materna, el contagio primario a través de lesiones vesiculosas con virus de herpes simple, papilomatosis en presencia de condilomas perianales). Por ende, la microbiota encontrada frecuentemente en la sepsis neonatal temprana se relaciona directamente con

dicha forma de contagio. El organismo más frecuentemente aislado reportado de forma mundial es el estreptococo beta hemolítico del grupo A, *Streptococcus agalactiae*. Sin embargo, el uso de antibióticos en el periodo próximo al parto ha resultado en una disminución en la incidencia del aislamiento de este organismo, aumentando la frecuencia de otras bacterias, principalmente Gram negativas.

Fuentes anglosajonas reportan en orden descendente de frecuencia el aislamiento de *S. agalactiae*, *E. coli*, bacterias Gram negativas como *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.* y *Haemophilus influenzae*, y en forma más remota, *Listeria monocytogenes*. Sin embargo, fuentes mexicanas¹⁵ muestran una distribución un tanto diferente: predominan las enterobacterias, siendo el primer lugar *E. coli*, seguida de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter sp.*, *Proteus mirabilis*, entre otras, representando el 63% de las bacterias. Posteriormente se reporta el aislamiento del grupo de los estreptococos (17.6%), con predominancia de *Streptococcus bovis*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae* y *S. pneumoniae*, en dicho orden de frecuencia. Finalmente, se reporta con menor frecuencia (5.9%), la presencia de *Enterococcus faecalis* y *E. faecium*.

En la sepsis neonatal tardía, hay una gran variabilidad en los organismos y la frecuencia de su aislamiento en sangre u otros fluidos corporales. Las bacterias más frecuentemente aisladas en la infección de aparición tardía son *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, otros organismos Gram negativos como *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.* y *Citrobacter sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.* y estafilococos coagulasa negativos.

Sin embargo, el aislamiento de un germen causal no siempre es posible en los pacientes con sepsis clínicamente diagnosticada. Remington et al¹⁶, reportan un aislamiento de 80% en hemocultivos premortem en recién nacidos con diagnóstico clínico de sepsis y aislamiento posmortem de 100% de patógeno infeccioso. Nuevas técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa del DNA (PCR DNA) representan nuevas técnicas prometedoras, aún poco utilizada, pero con mejor tasa de identificación de microorganismos que los cultivos convencionales.

¹⁵Pérez R., Lona J., Quiles M., Sepsis neonatal temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un hospital público del occidente de México, 2015, Revista Chilena de Infectología, 32 (4), 387-392.

¹⁶ Remington JS, Klein JO, Wilson CB, et al. Infectious diseases of the fetus and newborn: expert consult—online and print. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2010.

7. Diagnóstico.

El diagnóstico de la sepsis neonatal no resulta siempre sencillo. Una adecuada historia clínica y la identificación de factores de riesgo maternos, neonatales o ambos, son el paso más fundamental para establecer un adecuado diagnóstico. Los síntomas y signos pueden ser inespecíficos, aunque la presencia de distermia, taquicardia o síntomas respiratorios facilitan el diagnóstico. La experiencia clínica es una herramienta de gran importancia para la identificación de recién nacidos con probable sepsis neonatal. Los hallazgos físicos durante la exploración suelen estar ausentes, aunque ocasionalmente pueden encontrarse signos que orienten sobre un foco infeccioso localizado (por ejemplo, el abombamiento de las fontanelas en la meningitis, síndrome de dificultad respiratoria en la neumonía congénita, eritema o secreción en la onfalitis, entre otros). En otros casos, la presencia de fiebre, taquicardia y distermia, o en casos graves, la identificación de choque séptico son criterios clínicos suficientes para iniciar su abordaje y tratamiento.

Los hallazgos bioquímicos más frecuentemente encontrados son la leucopenia y trombocitopenia, siendo la leucocitosis o trombocitosis reactiva hallazgos menos frecuentes en los recién nacidos. El aislamiento del organismo en cultivos de sangre, orina o líquido cefalorraquídeo son el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis, aunque el 20% de los casos no cuentan con identificación de un germen causal. Se han utilizado diversas moléculas que se encuentran elevadas en el recién nacido con sepsis neonatal, con diversas ventajas y desventajas.

La proteína C reactiva (PCR) es una molécula que fue descubierta en 1930 por Tillet y Francis. Se considera uno de los reactantes de fase aguda que promueven el aumento del punto térmico y generación de la fiebre. Su función radica en facilitar la unión de las proteínas del complemento a células dañadas destinadas a la apoptosis o a células no reconocidas por el CMH (por ejemplo, células bacterianas o fúngicas) para facilitar su opsonización y la activación del complemento. Al nacimiento, el recién nacido de término es capaz de producir niveles de PCR similares a los del adulto; no se ha estudiado completamente la capacidad de producción en neonatos pretérmino¹⁷. Durante la presencia de un estímulo proinflamatorio, el hígado comienza la producción de PCR llegando a niveles pico aproximadamente a las 48 a 72 horas. Sin embargo, la elevación de la PCR puede ser provocada por estímulos no infecciosos, por lo que no se utiliza de forma habitual como marcador único en el diagnóstico en la sepsis

¹⁷ Hisamuddin E, Hisam A, Wahid S, Raza G. *Validity of C-reactive protein (CRP) for diagnosis of neonatal sepsis*. Pak J Med Sci 2015;31(3):527-531

neonatal. Su mayor utilidad se ha encontrado en la toma seriada para valorar la respuesta a tratamiento antibiótico.

La procalcitonina es una molécula producida por las células C de la glándula tiroides como precursor de la calcitonina. Fisiológicamente los niveles de la pro hormona son indetectables en suero. Durante un proceso infeccioso grave, tanto de origen bacteriano o fúngico (pero no viral), hay una elevación sérica, con producción extra tiroidea de dicha molécula, pero sin elevación de los niveles de calcitonina sérica. Se desconoce su rol en el proceso inflamatorio, pero se cree que es un regulador en la secreción y respuesta a diversas citosinas inflamatorias. Durante infecciones virales o estímulos no infecciosos, no hay elevación de dicha pro hormona. Se considera no un marcador de infección, sino de infección grave, generalmente con compromiso sistémico y su elevación generalmente es proporcional a la gravedad del proceso. Pueden encontrarse niveles suprafisiológicos durante el primer día de vida, sin traducirse como la presencia de infección. Hay elevaciones moderadas en casos de trauma, cirugía y patologías no infecciosas como la pancreatitis, aunque en pocos casos la elevación es tan marcada como lo es en la sepsis. Se ha utilizado como marcador único en la diferenciación de procesos infecciosos de otros procesos inflamatorios, como el rechazo en trasplantes, exacerbación de enfermedad crónica o identificación de infecciones virales versus bacterianas¹⁸.

Otros marcadores bioquímicos como las interleucinas, factor de necrosis tumoral o interferón se encuentran en validación. Dada su relevancia en la cascada de la sepsis y la activación inmunitaria, se consideran candidatos prometedores en el reconocimiento temprano de los procesos infecciosos en recién nacidos, que podrían identificarse aún antes de las manifestaciones clínicas iniciales. Sin embargo, su sensibilidad y especificidad aún no los coloca en una posición estadísticamente significativa para el ser herramientas diagnósticas.

Es necesario continuar con la búsqueda de una herramienta diagnóstica (o combinación de éstas) para el diagnóstico temprano y confiable de la sepsis neonatal. Gran parte de los recién nacidos que reciben antibióticos no se encuentran cursando con un proceso bacteriano agudo, pero la alta mortalidad de la sepsis justifica el uso temprano de terapia antimicrobiana en cualquier neonato con sospecha de sepsis. A pesar de que sería ideal encontrar una prueba 100% sensible y específica, la sensibilidad es de radical importancia para identificar a todos los neonatos con una infección que amerite manejo y vigilancia estrecha, una vez establecido el diagnóstico.

¹⁸ Chiesa C., Pacifico L., *Early onset neonatal sepsis: still room for improvement in procalcitonin diagnostic accuracy studies*, 2015, *Medicine*, volume 94, number 30.

8. Tratamiento

Es de vital importancia el inicio precoz del tratamiento por el riesgo de descompensación hemodinámica y la progresión a choque séptico grave que ponga en peligro la vida del recién nacido. La terapia inicial consiste en la estabilización de los parámetros vitales, con administración de soluciones parenterales, oxígeno suplementario, control térmico, mantener un adecuado estado ácido-base, normoglucemias y, en casos graves, se requiere el uso de aminas vasoactivas para evitar daño a órgano blanco por hipoperfusión e hipoxia. El uso de antibióticos es el pilar fundamental en el tratamiento de la sepsis neonatal, variando de acuerdo a la presentación (por ejemplo, en caso de choque séptico o sepsis de inicio temprano o tardío). El tratamiento más frecuente consiste en el uso de ampicilina más un sinergista aminoglucósido (ej, amikacina), por su adecuada cobertura contra *E. coli* y *S. agalactiae*, además de *Listeria sp* y enterococos¹⁹. El uso de cefalosporinas de tercera generación de forma indiscriminada se ha asociado a mayor tasa de resistencia antimicrobiana; además, tiene pobre cobertura contra *Listeria* y especies de enterococo. Se utiliza fundamentalmente en casos de meningitis por bacterias Gram negativas. Otros factores como menor excreción de antibióticos, mayor volumen extracelular, porcentaje de unión a proteínas plasmáticas son importantes para el ajuste de dosis y posología de los antibióticos, particularmente en el recién nacido pre término. El tratamiento idealmente debe ser antibiótico intravenoso, por la absorción errática de los medicamentos orales y para evitar la administración intramuscular repetida.

El tratamiento debe ser ajustado de acuerdo al estado general del recién nacido y el aislamiento del organismo causal en los cultivos. En un paciente con adecuado estado general, sin crecimiento en cultivos a las 48 a 72 horas, puede considerarse discontinuar el uso de antibióticos, dependiendo de los factores de riesgo y evolución clínica, excepto en casos de neumonía, donde el aislamiento bacteriano en cultivos de sangre es pobre. El tratamiento en casos con sepsis confirmada con organismo identificado, el tratamiento generalmente se establece por un periodo de 7 días. En casos de meningitis, se recomienda continuar tratamiento antibiótico de 2 a 3 semanas tras la esterilización del líquido cefalorraquídeo, salvo en infección por bacterias Gram negativas, donde la duración mínima es de 21 días. En casos de infección por *S.agalactiae* y *Listeria monocytogenes*, la duración del tratamiento se establece hasta 14 días²⁰.

¹⁹ *Guías clínicas del departamento de Neonatología*, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, 2011.

²⁰ Gleason C., *Avery, diseases of the newborn*, 9° edition, Elsevier, 2012, Philadelphia, United States of America.

Planteamiento del problema

La sepsis neonatal constituye un problema de salud pública por su frecuencia y mortalidad. El retraso en el diagnóstico es un factor que contribuye al retraso del tratamiento y que aumenta las complicaciones en el recién nacido. No existe hasta la fecha una herramienta diagnóstica que tenga una alta sensibilidad y especificidad para realizar un diagnóstico certero y precoz; algunos marcadores como la procalcitonina han demostrado tener una gran utilidad en identificar infección bacteriana grave con una buena sensibilidad, sin embargo, es una prueba diagnóstica cara y no accesible en todas las unidades de salud. La PCR es una herramienta diagnóstica más accesible en relación a costos y distribución en los diversos hospitales que atienden recién nacidos con sospecha de sepsis neonatal, aunque su sensibilidad y especificidad como marcador único no es adecuada. A pesar de la existencia de nuevos marcadores como interleucinas, éstas no están disponibles en el ámbito clínico, ni siquiera en hospitales de tercer nivel como el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Pregunta de investigación

¿Cuál es el rendimiento diagnóstico de la proteína C reactiva (PCR) en asociación con otros marcadores, comparado con la procalcitonina (PCT) en el diagnóstico de sepsis neonatal?

Justificación

La sepsis neonatal es una entidad patológica con un gran impacto en salud pública. Se presenta de forma universal y representa la segunda causa de mortalidad en recién nacidos durante la primera semana de vida. En México se reporta una tasa de 15 a 30 casos por 1000 RN, con mortalidad entre 25 a 30%. Las infecciones en el periodo neonatal conllevan una mayor morbilidad y mortalidad por la inmadurez inmunológica intrínseca y factores propios del huésped (como bajo peso al nacer y la prematuridad). La poca especificidad de las manifestaciones clínicas puede retrasar el tratamiento y aumentar los costos de hospitalización, además de provocar el uso excesivo de antibióticos que conlleva a efectos perjudiciales en el recién nacido. El diagnóstico de la sepsis neonatal conlleva a un reto, pues en ocasiones el cuadro clínico es muy variado y se traslapa con entidades no infecciosas y la exploración física puede no encontrarse con anomalías de importancia. Se han utilizado herramientas diagnósticas como la biometría hemática, procalcitonina, proteína C reactiva y citosinas, todas con un rol importante en el proceso inflamatorio desencadenado por la sepsis. Sin embargo, ninguna prueba diagnóstica cuenta con la sensibilidad y especificidad necesarias para el diagnóstico preciso de la sepsis en los pacientes recién nacidos. Se han realizado estudios comparando el uso de uno o varios marcadores diagnósticos, con un aumento de la eficacia diagnóstica cuando se utiliza más de un marcador. En otros casos, la determinación seriada mejora sustancialmente la sensibilidad y especificidad diagnóstica, por lo que ambas estrategias son herramientas que podrían contribuir a mejorar el rendimiento diagnóstico de un marcador específico.

En este trabajo se planteará la posibilidad de usar herramientas diagnósticas disponibles en la gran mayoría de hospitales de segundo nivel, como la combinación de la biometría hemática y la proteína C reactiva en determinaciones seriadas, para validar su uso conjunto como una prueba diagnóstica con adecuada sensibilidad y especificidad que pueda ser utilizada de forma rutinaria para mejorar el rendimiento diagnóstico y la identificación precoz de recién nacidos con sepsis neonatal. Se comparará su eficacia como herramienta de diagnóstico con otros marcadores como la PCT con el objetivo de identificar si el uso de PCR más biometría hemática presentan resultados similares o superiores a la pro calcitonina. De ser así, podría utilizarse dicha combinación en centros de segundo nivel, mejorando el rendimiento diagnóstico, disminuyendo los costos en pruebas diagnósticas y acortando la estancia hospitalaria.

Objetivo

- ✓ Identificar marcadores bioquímicos o una combinación de éstos, con elevada sensibilidad y especificidad en diagnóstico de sepsis neonatal y comparar estadísticamente su rendimiento diagnóstico contra la procalcitonina.

Métodos

Se realizó un estudio transversal analítico a partir de pacientes hospitalizados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en los años 2017 y 2018 en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN).

A partir de la medición de marcadores como procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR) y biometría hemática, se determinó la sensibilidad y especificidad de cada marcador de forma individual, comparando estadísticamente su rendimiento diagnóstico mediante curvas *ROC*.

Posteriormente, se comparó la asociación de PCR con diferentes variables individuales (como la presencia de leucopenia, biometría hemática alterada o el índice banda/neutrófilo) mediante la realización de constructos dicotómicos, contra la PCT, el marcador biológico que ha mostrado mayor utilidad en sepsis neonatal. Dado que se compara una variable continua contra una discreta (dicotómica), no es posible realizar análisis estadístico mediante curvas *ROC*, siendo sólo comparables a través de parámetros calculados como sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, así como las respectivas razones de probabilidad.

1. Criterios de Inclusión

Se incluyeron en el estudio pacientes neonatos de 7 días o menos de vida extrauterina, ingresados a la UCIN con sospecha de sepsis neonatal o por patología no infecciosa que ameritasen hospitalización. Se consideraron candidatos al estudio recién nacidos tanto de término como pretérmino, sanos o con comorbilidades asociadas.

Los sujetos participantes del estudio deben contar con al menos una medición de procalcitonina (PCT), biometría hemática, así como dos determinaciones de proteína C reactiva (PCR) para la valoración del rendimiento de cada uno de los marcadores descritos.

Los pacientes casos se consideraron aquellos que al ingreso presentaban criterios clínicos para sepsis neonatal (inestabilidad hemodinámica, alteraciones térmicas y signos de respuesta inflamatoria sistémica con un foco infeccioso sospechoso o identificado), independientemente

de la gravedad del cuadro. El diagnóstico de sepsis neonatal sería posteriormente corroborado por el servicio de Neonatología de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales para ser considerado candidato para el estudio.

Dado que el objetivo principal de este trabajo de investigación es comparar una prueba diagnóstica con otra (PCT contra PCR, biometría hemática, índice banda neutrófilo o una combinación de éstos), se consideró imperativo tener al menos una medición de cada marcador diagnóstico en cada uno de los pacientes ingresados al estudio, es decir, una medición de PCT y BH al momento del ingreso. En el caso de la PCR, se determinó como requisito dos determinaciones, la primera al ingreso y la segunda durante las primeras 72 horas, para valorar la validez de la toma seriada de dicho marcador.

2. Criterios de exclusión

No se incluyeron en el estudio pacientes recién nacidos de más de 7 días de vida extrauterina, que por definición no se encuentran dentro del grupo de edad para sepsis neonatal temprana.

También se excluyeron del estudio aquellos pacientes, quienes a pesar de cumplir con los criterios clínicos de sepsis y la edad posnatal especificada, no contaban con las determinaciones requeridas de los marcadores necesarios para el objetivo de este trabajo (PCT, biometría hemática y dos determinaciones de PCR) o que no tuvieran con al menos un cultivo de sangre periférica, pues impediría su categorización como sepsis bacteriológicamente demostrada.

Durante la selección de los sujetos de la muestra para el estudio actual se tomaron en consideración diversos factores. Se decidió incluir pacientes en todos los espectros de gravedad, con tanta aleatorización como fuera posible, para evitar el sesgo de espectro para evitar que el rendimiento de la prueba diagnóstica se viera modificado en medida que varía la gravedad del padecimiento (ej. sepsis, sepsis grave y choque séptico).

3. Pacientes con sepsis neonatal

Se obtuvo una muestra de 15 pacientes, 8 recién nacidos de término y 7 pretérmino, 6 mujeres y 9 hombres. En el espectro de gravedad se catalogaron 12 como sepsis sin choque y 3 recién nacidos con choque séptico.

Dentro de los recién nacidos de término, se encontró un paciente con antecedente de asfixia perinatal por trabajo de parto prolongado, uno con sospecha de cardiopatía congénita, un

recién nacido con onfalitis, dos con malformaciones abdominales (uno con atresia intestinal y uno con gastrosquisis), dos recién nacidos sanos y un recién nacido con atresia tricuspídea, que desarrolló perforación intestinal y choque séptico que resultó en su fallecimiento.

En el grupo de recién nacidos pretérmino, se describió un caso de sífilis congénita, tres pacientes con síndrome de dificultad respiratoria tipo I asociada a prematurez y tres pacientes sin patología asociada evidente en el momento del diagnóstico.

4. Pacientes sin sepsis neonatal

Se obtuvo una muestra de 20 pacientes, 12 recién nacidos de término y 8 pretérmino, 3 mujeres y 17 hombres.

En los pacientes de término, se incluyeron a un recién nacido con síndrome de niño hipotónico, uno con malformación ano rectal con fístula recto bulbar, uno con incompatibilidad de grupo ABO, uno con bloqueo atrio-ventricular congénito, dos con hiperbilirrubinemia multifactorial, dos recién nacidos con deshidratación hipernatrémica por mala técnica de alimentación, uno con taquipnea transitoria del recién nacido por nacimiento vía abdominal y tres neonatos sin patología asociada o comorbilidades.

El grupo de los recién nacidos pretérmino contiene un caso de atresia esofágica tipo I, tres casos de síndrome de dificultad respiratoria tipo I asociado a prematurez y cuatro neonatos sin patología asociada al momento del diagnóstico.

Descripción de variables

Sepsis: de acuerdo a la consideración operacional del estudio, se define a un paciente con sepsis a todo aquel con evidencia de respuesta inflamatoria sistémica, con hallazgos clínicos sugerentes de un foco infeccioso sospechoso o evidente.

Sepsis microbiológicamente demostrada: todo paciente que cumpla la definición operacional de sepsis, con evidencia de aislamiento bacteriológico de un germen en un cultivo de fluido corporal (sangre, orina, líquido cefalorraquídeo).

Recuento leucocitario: se refiere a la medición de células de la serie granulocítica medidas en una biometría hemática. Se considera leucocitosis al recuento mayor a 34,000 células/mm³ y leucopenia un recuento menor a 5,000 células/mm³. Constituye una variable cuantitativa discreta

Recuento plaquetario: se refiere a la medición de células derivadas de megacariocitos, medidas en una biometría hemática. Se define trombocitosis como un recuento plaquetario mayor a 350,000 plaquetas/mm³ y trombocitopenia como un recuento plaquetario menor a 150,000 plaquetas/mm³. Constituye una variable cuantitativa discreta

Bandemia: Es la medición de formas inmaduras (bandas y metamielocitos) a partir de la población total de leucocitos en una biometría hemática. Es una variable cuantitativa discreta

Índice banda/neutrófilo: Resulta de la asociación racional del número total de formas inmaduras (bandas) y el número total de neutrófilos reportados en una biometría hemática. Constituye una variable cuantitativa continua. Ya que se trata de un índice de dos valores porcentuales, no se expresa en unidades.

Niveles séricos de pro calcitonina: variable cuantitativa continua. Se expresa en nanogramos sobre mililitro (ng/ml). Se tomó como punto de corte 1ng/ml.

Niveles séricos de proteína C reactiva: variable cuantitativa continua. Se expresa en nanogramos sobre mililitro (ng/ml). Se tomó como punto de corte 1ng/ml.

Plan de análisis estadístico

A partir de los datos obtenidos de la muestra descrita, se calcularon la especificidad y sensibilidad, valor predictivo positivo y negativo, así como razones de probabilidad, con los intervalos de confianza para una $p < 0.05$ para cada uno de los marcadores diagnósticos.

Basado en regresión logística y la creación de curvas de características operativas del receptor, o curvas ROC por su acepción en inglés (*Receiver Operating Characteristics, ROC*) se determinaron los valores donde se encuentra la mayor sensibilidad y especificidad para cada uno de los marcadores. Posteriormente se realizaron pruebas de igualdad de áreas bajo la curva para comparar estadísticamente el rendimiento diagnóstico entre aquellos marcadores con variables no dicotómicas, como lo son la procalcitonina, la proteína C reactiva y el índice banda/neutrófilo.

Consideraciones éticas

De acuerdo a la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, en la 64° Asamblea General, Fortaleza Brasil, en octubre de 2013, refiere que el principal propósito de la investigación médica es comprender las causas, evolución y efectos de la enfermedad para mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas, siempre teniendo como prioridad el bienestar y la integridad del paciente. Es obligación del médico velar por proteger la vida y la salud, así como la confidencialidad de los pacientes a su cargo. Debe considerar los riesgos y beneficios que el estudio conlleva en cada sujeto de investigación y aplicarla en caso de encontrar un valor justificado que pueda brindar conocimiento médico, sin afectar de manera adversa la salud. Se deben también implementar medidas para reducción de riesgos, siendo éstos monitorizados, evaluados y documentados por el investigador. Toda intervención debe encontrarse en total apego a las consideraciones referidas por esta declaración en un margen internacional.

La Ley General de Salud en Materia de Investigación, en su título segundo, capítulo IV (De la investigación en mujeres en edad fértil, embarazadas, durante el trabajo de parto, puerperio, lactancia, recién nacidos; de la utilización de óbitos y fetos y de la fertilidad asistida), artículo 53, establece que los procedimientos del estudio se realizarán sin provocar el cese de sus funciones y se busque obtener conocimientos generalizables importantes que no puedan obtenerse de otro modo.

Así mismo, de acuerdo al título segundo, capítulo I, en su artículo 17, se clasifica un estudio con riesgo mínimo aquel estudio prospectivo que emplea el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnóstico o tratamiento rutinarios, incluyendo la extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, máximo dos veces a la semana. En el caso de los estudios de riesgo mínimo, por razones justificadas, el Comité de Ética puede autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formulación escrita.

Al tratarse de un estudio observacional, sólo se requirió del acceso y análisis de la información clínica contenida en los expedientes físico y electrónico de los pacientes. Por ende, no se realizaron intervenciones que conllevaran un riesgo, si acaso mínimo, como lo sería toma de muestras de sangre adicionales a las ya solicitadas por los médicos del servicio de Neonatología. La tesis presente, consecuentemente, es un trabajo sin riesgo para los pacientes incluidos en la población a estudiar, por lo que no fue necesario estructurar una carta de consentimiento para la inclusión de los pacientes al mismo.

La revisión y obtención de información de los expedientes clínicos se realizó bajo los preceptos de privacidad y protección de datos personales descrita en la Norma Oficial Mexicana del Expediente Clínico y la información reflejada en el estudio no contrapone el derecho a la privacidad inherente a cada uno de los sujetos incluidos en el presente trabajo, pues no se plasma información sensible que pueda comprometer la soberanía o dignidad de los pacientes estudiados.

Análisis de resultados

Una vez obtenidos los pacientes de la muestra para el estudio, se determinó para cada marcador diagnóstico su sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, así como la razón de probabilidad positiva y negativa.

De manera adicional, para aquellos marcadores que tengan valores continuos no dicotómicos, por ejemplo, PCT, PCR, índice banda neutrófilo, se realizaron curvas ROC para determinar su área bajo la curva y valorar mediante una prueba de igualdad de áreas bajo la curva, su equivalencia estadística en términos de poder diagnóstico.

A partir de las curvas *ROC*, se determinó que el valor con mejor sensibilidad y especificidad, tanto para la procalcitonina y la proteína C reactiva, es de 1ng/ml, por lo que éste se tomó como punto de corte para considerar la medición como positiva o negativa en la realización de los constructos con el resto de las variables estudiadas.

Dado que el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis neonatal es el cultivo, se consideró también medir su sensibilidad y especificidad para compararlo así con lo descrito en diversas referencias bibliográficas. Sin embargo, ya que el objetivo de este trabajo es la comparación de marcadores bioquímicos específicos, tales como la PCT y la PCR, no se realizó el análisis estadístico a través de curvas *ROC* del poder diagnóstico del cultivo, sólo se describen los microorganismos aislados y se establece su especificidad y sensibilidad para la población estudiada. Además, al tratarse de una variable no numérica, que sólo podría dicotomizarse en positiva y negativa, no es candidata para analizarse mediante una curva ROC en comparación con otras variables numéricas como lo es la PCT o la PCR.

	Sepsis	No sepsis	
Cultivo positivo	10	0	10
Cultivo negativo	5	20	25
	15	20	

Se reportó aislamiento bacteriológico en 10 de los 15 casos de sepsis, siendo el germen causal más frecuente *E. coli* (40%), seguido de *Enterococcus sp* (40%), y *K. pneumoniae* (20%). Como prueba diagnóstica el cultivo obtuvo una sensibilidad de 66.7% [0.417 a 0.848], especificidad del 100% [0.839 a 1], valor predictivo positivo de 100% [0.722 a 1], valor

predictivo negativo de 80% [0.609 a 0.911], razón de probabilidad positiva de infinito y razón de probabilidad negativa de 0.333 [0.163 a 0.682]

	Sepsis	No sepsis	
PCT positiva	13	0	13
PCT negativa	2	20	22
	15	20	

La PCT se consideró el marcador diagnóstico bioquímico por excelencia y con el cual se compararon el resto de las pruebas y paneles diagnósticos. Para la población estudiada, se encontró que para el valor de 1ng/ml (con el cual se encontró en las curvas *ROC* una mayor área bajo la curva) una sensibilidad de 86.7% [0.621 a 0.963], especificidad de 100% [0.839 a 1], valor predictivo positivo de 100% [0.772 a 1], valor predictivo negativo de 90.9% [0.722 a 0.975], con razón de probabilidad negativa de 0.133 [0.037 a 0.484], y un razón de probabilidad positiva de infinito.

	Sepsis	No sepsis	
PCR positiva	8	4	12
PCR negativa	7	16	23
	15	20	

La PCR tuvo menor poder diagnóstico, con una sensibilidad de 53.3% [0.301 a 0.752], especificidad de 80% [0.584 a 0.919], valor predictivo positivo de 66.7% [0.391 a 0.862], valor predictivo negativo de 69.6% [0.491 a 0.844], razón de probabilidad positiva de 2.665 [0.985 a 7.221] y razón de probabilidad negativa de 0.584 [0.325 a 1.046].

	Sepsis	No sepsis	
Índice banda/neutrófilo >0.2	8	0	8
Índice banda/neutrófilo <0.2	7	20	27
	15	20	

Dentro de las pruebas diagnósticas se consideró también la evaluación del índice banda/neutrófilo como un marcador aislado de utilidad. Se encontró con una sensibilidad de 53.3% [0.301 a 0.752], especificidad de 100% [0.839 a 1], valor predictivo positivo de 100% [0.676 a 1], valor predictivo negativo de 74.1% [0.553 a 0.868], razón de probabilidad positiva de infinito y razón de probabilidad negativa de 0.467 [0.272 a 0.802].

	Sepsis	No sepsis	
Biometría hemática alterada	8	0	8
Biometría hemática normal	7	20	27
	15	20	

Se valoró también la presencia de alteraciones en la biometría hemática que frecuentemente se asocian a un proceso infeccioso (leucocitosis, leucopenia, bandemia, trombocitosis o trombocitopenia) para determinar si la simple alteración de la biometría hemática con cualquiera de las alteraciones previamente mencionadas o individualmente son útiles para el diagnóstico.

La presencia de cualquier alteración de la biometría hemática en el recién nacido con sepsis tiene una sensibilidad de 53.3% [0.301 a 0.752], especificidad de 100% [0.839 a 1], VPP de 100% [0.676 a 1], VPN de 74.1% [0.553 a 0.868], razón de probabilidades positiva de infinito y razón de probabilidades negativa de 0.467 [0.272 a 0.802].

De forma independiente, cada una de las alteraciones en la biometría hemática obtuvo diferentes resultados para sensibilidad y especificidad de forma aislada, siendo la presencia de leucopenia la más frecuentemente asociada a los casos de sepsis, aunque con menor sensibilidad y especificidad que el índice banda/neutrófilo como variable aislada.

Con el afán de determinar si la conjunción de determinantes individuales aumentaría la capacidad de discernir entre pacientes con sepsis y sin ella, se idearon ‘constructos’, que buscan valorar el poder diagnóstico de una medición de PCR asociado a marcadores como la presencia de alteraciones cualesquiera en la biometría hemática, el índice banda/neutrófilo y la leucopenia. Para cada constructo, se consideró positivo al hallarse positivo cualquiera de los componentes del conjunto y negativo si ambos valores del conjunto resultaban negativos. De este modo, aumentaría la sensibilidad, manteniendo o teniendo una discreta disminución de la especificidad del constructo como prueba diagnóstica.

	Sepsis	No sepsis	
PCR positiva + BH alterada	15	7	22
PCR negativa + BH normales	0	13	13
	15	20	

El primer constructo valoró una medición de PCR asociada a alteraciones en la biometría hemática sugerentes de sepsis. Se encontró una sensibilidad de 100% [0.796 a 1], especificidad de 65% [0.433 a 0.819], valor predictivo positivo de 68.2% [0.473 a 0.836], valor predictivo negativo de 100% [0.722 a 1], razón de probabilidad positiva de 2.857 [1.572 a 5.192] y razón de probabilidad negativa de 0.

	Sepsis	No sepsis	
PCR positiva + IBN positivo	11	4	15
PCR negativa + IBN negativo	4	16	20
	15	20	

El segundo constructo consideró una medición de PCR junto con la determinación del índice banda/neutrófilo en la biometría hemática. Este conjunto de determinantes obtuvo una sensibilidad de 73.3% [0.48 a 0.891], especificidad de 80% [0.584 a 0.919], valor predictivo

positivo de 73.3% [0.48 a 0.891], valor predictivo negativo de 80% [0.584 a 0.919], razón de probabilidad positiva de 3.665 [1.449 a 9.276] y razón de probabilidad negativa de 0.

	Sepsis	No sepsis	
PCR positiva + leucopenia	12	4	16
PCR negativa + leucocitos normales	3	16	19
	15	20	

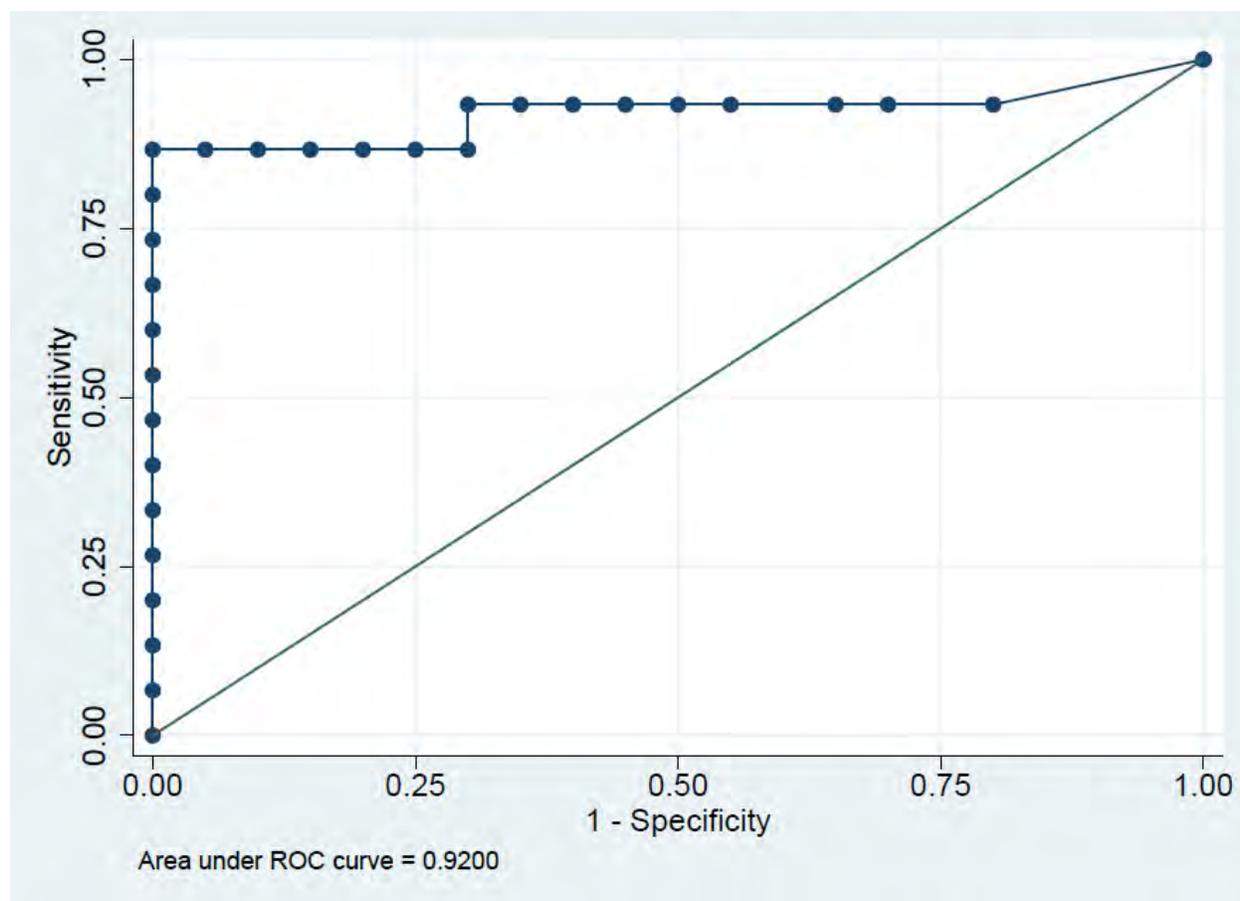
El tercer constructo consistió en la medición de PCR y presencia de leucopenia en la biometría hemática. Se encontró para este conjunto de variables una sensibilidad de 80% [0.548 a 0.93], especificidad de 80% [0.548 a 0.919], valor predictivo positivo de 75% [0.505 a 0.898], valor predictivo negativo de 84.2% [0.624 a 0.945], razón de probabilidad positiva de 4 [1.606 a 9.96] y razón de probabilidad negativa de 0.25 [0.089 a 0.704].

	Sepsis	No sepsis	
PCR seriada positiva	8	4	12
PCR seriada negativa	7	16	23
	15	20	

El cuarto constructo consistió en dos determinaciones de PCR, la primera al ingreso y la segunda durante las primeras 72 horas de hospitalización. Esta medición seriada de PCR tuvo una sensibilidad de 53.3% [0.301 a 0.752], especificidad de 80% [0.584 a 0.919], valor predictivo positivo de 66.7% [0.391 a 0.862], valor predictivo negativo de 69.6% [0.491 a 0.844], razón de probabilidad positiva de 2.665 [0.985 a 7.221] y razón de probabilidad negativa de 0.584 [0.325 a 1.046]

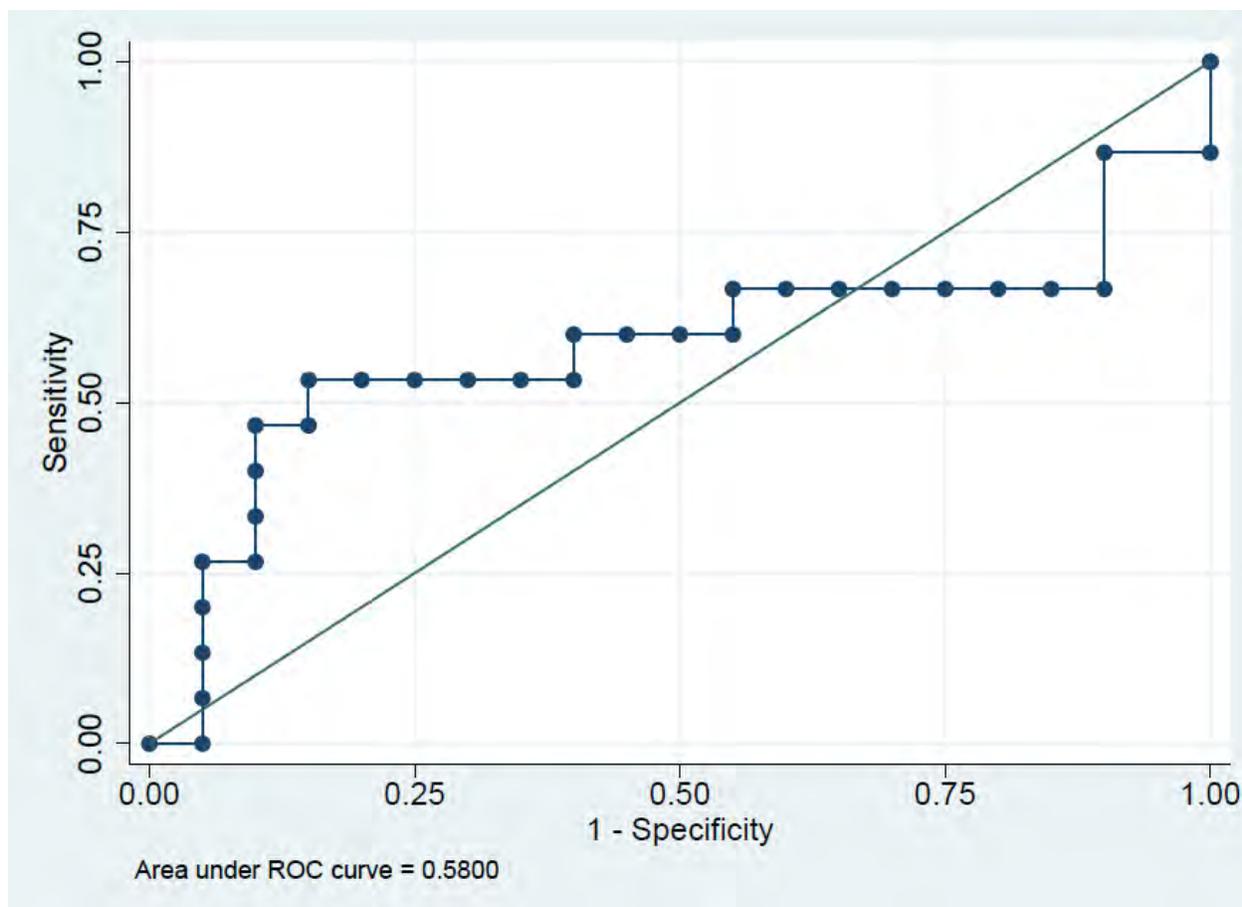
Se realizaron, a través de regresión logística, curvas *ROC* para diferentes marcadores diagnósticos, seleccionados por obtener en el análisis inicial la mayor sensibilidad y especificidad en las tablas de contingencia. Al determinar y comparar el área bajo la curva de

cada uno de los marcadores, se determinó si existe una diferencia estadísticamente significativa entre el poder diagnóstico de cada uno de éstos.



El área bajo la curva de la PCT alcanza un 0.92, que en términos de poder diagnóstico refleja la eficiencia de este marcador en el diagnóstico de sepsis neonatal. Dado que la PCT se consideró como el estándar diagnóstico en este estudio, será la comparación con éste el que determinará la validez estadística del resto de los marcadores diagnósticos.

Cabe recalcar que no es posible la comparación de forma directa a través de curvas ROC con el cultivo o los constructos previamente valorados, ya que la característica dicotómica de dichos marcadores, no son valorables a través de curvas ROC. Se compararán exclusivamente a través de los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo y sus respectivas razones de probabilidad.



La PCR generó una curva ROC con un área bajo la curva de 0.58. En el análisis estadístico previo, se observó que el rendimiento diagnóstico de la PCR fue menor que el de la PCT, sin embargo, se requiere realizar la prueba de igualdad de áreas bajo la curva para determinar si esta diferencia en el rendimiento diagnóstico es estadísticamente significativa.

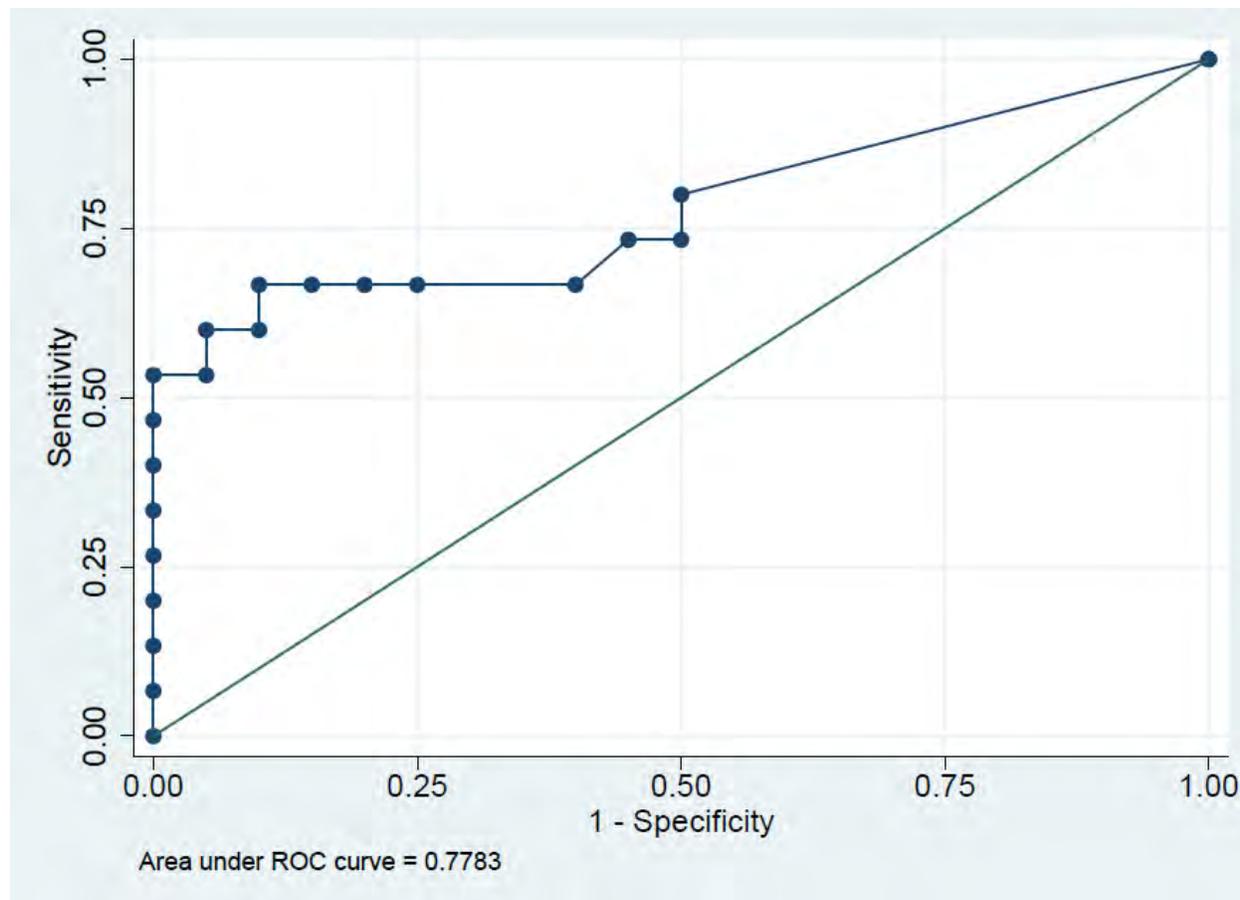
```
. roccomp y pct pcr
```

	Obs	ROC Area	Std. Err.	—Asymptotic Normal— [95% Conf. Interval]	
pct	35	0.9200	0.0625	0.79758	1.00000
pcr	35	0.5800	0.1130	0.35847	0.80153

```
Ho: area(pct) = area(pcr)
```

```
chi2(1) = 10.79 Prob>chi2 = 0.0010
```

Se realizó una prueba de igualdad de las áreas bajo la curva de la PCT y la PCR, considerando la hipótesis nula de que existe igualdad entre ambas, encontrándose un estadístico Chi2 de 10.79 y un valor de p de 0.001 asociado, que es estadísticamente significativa. Por tanto, se rechaza la hipótesis nula y por ende, el poder diagnóstico de la PCR es estadísticamente inferior que el de la PCT al no existir igualdad entre el área bajo sus curvas.



Se realizó una curva *ROC* para el índice banda/neutrófilo, un marcador que mostró una excelente especificidad en el análisis inicial de las tablas de contingencia. Se obtuvo un área bajo la curva de 0.778, que resulta menor que el área bajo la curva de la PCT, pero deberá establecerse la comparación estadística mediante una prueba de igualdad.

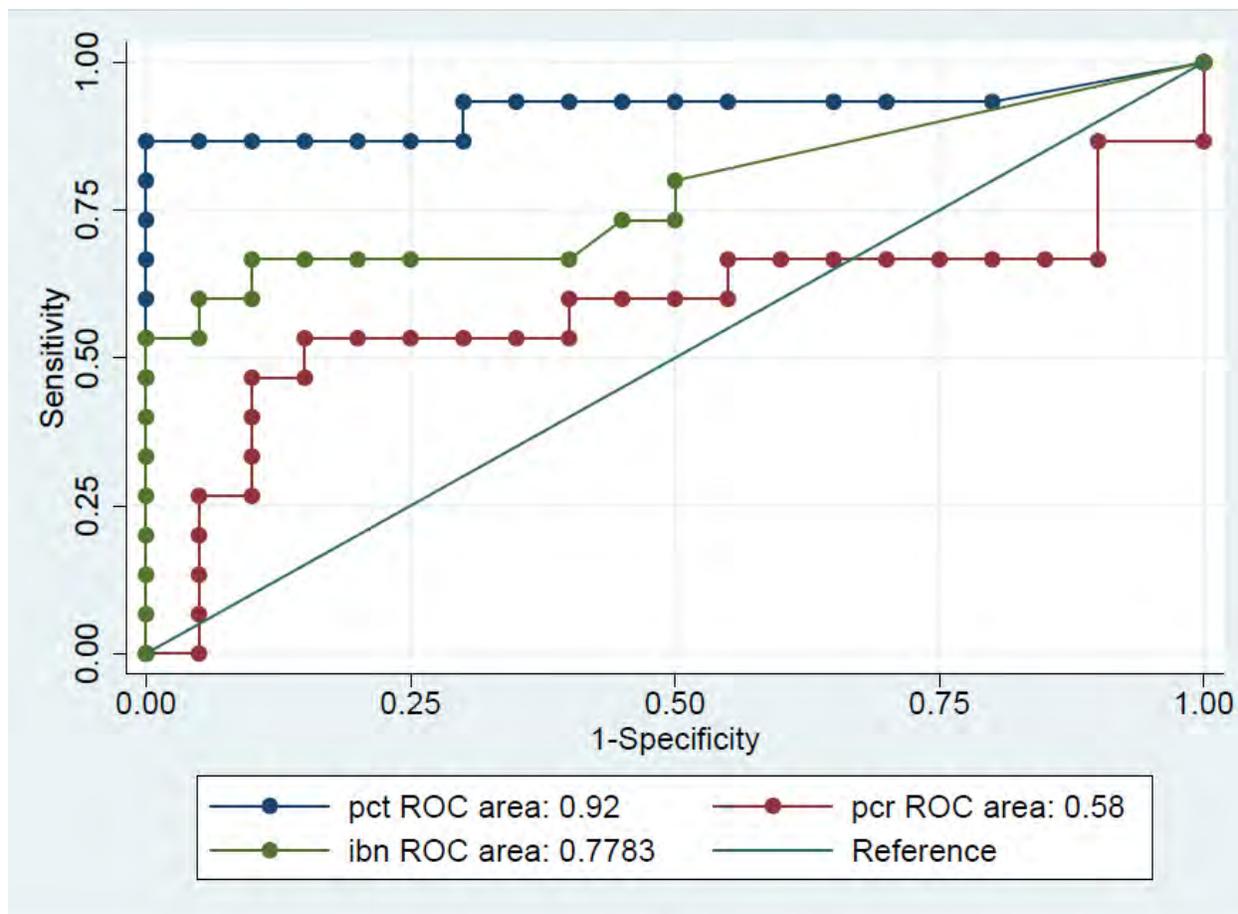
```
. roccomp y pct ibn
```

	Obs	ROC Area	Std. Err.	—Asymptotic Normal— [95% Conf. Interval]	
pct	35	0.9200	0.0625	0.79758	1.00000
ibn	35	0.7783	0.0865	0.60876	0.94791

```
Ho: area(pct) = area(ibn)
```

```
chi2(1) = 2.69 Prob>chi2 = 0.1008
```

La prueba de igualdad del área bajo la curva *ROC* entre PCT y el índice banda/neutrófilo, considerando la hipótesis nula de igualdad entre las áreas bajo la curva. Se obtiene un estadístico Chi2 de 2.69, con un valor de p de 0.1008. Al no ser estadísticamente significativa, no es posible rechazar la hipótesis nula de igualdad de las curvas, por lo que se concluye que el poder diagnóstico de la PCT y el índice banda neutrófilo son estadísticamente iguales, al tener áreas bajo la curvas equiparables.



Se tabularon de forma conjunta las curvas ROC de la PCT (azul), PCR (rojo) e índice banda/neutrófilo (verde), para observar de forma gráfica la comparación de las áreas bajo la curva. Si bien observamos que la PCT tiene una mayor área bajo la curva (y por ende, mayor rendimiento diagnóstico), que la PCR y el índice banda/neutrófilo, previamente se encontró en las pruebas de igualdad de curvas una semejanza estadísticamente significativa entre la PCT y el índice banda/neutrófilo. La PCR tiene un área bajo la curva estadísticamente menor, por lo que su validez diagnóstica no es estadísticamente equiparable a la PCT, el marcador diagnóstico estándar para este estudio.

A continuación se resumen los resultados de las diferentes pruebas diagnósticas realizadas.

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo	Razón de probabilidades positivo	Razón de probabilidades negativa
Procalcitonina	86.7%	100%	100%	90.9%	Infinito	0.133
Cultivo	66.7%	100%	100%	80%	Infinito	0.333
Proteína C reactiva	53.3%	80%	66.7%	69.6%	2.665	0.584
BH alterada	53.3%	100%	100%	74.1%	Infinito	0.467
Leucopenia	46.7%	100%	100%	71.4%	Infinito	0.533
Índice banda/neutrófilo	53.3%	100%	100%	74.1%	Infinito	0.467
Constructo 1 (PCR+BH)	100%	65%	68.2%	100%	2.857	0
Constructo 2 (PCR+IBN)	73.3%	80%	73.3%	80%	3.665	0.334
Constructo 3 (PCR+leucopenia)	80%	80%	75%	84.2%	4	0.25
Constructo 4 (PCR seriada)	53.3%	80%	66.7%	69.6%	2.665	0.584

Se observa que en este estudio, la procalcitonina, mostró mayor sensibilidad como herramienta diagnóstica que el aislamiento en los pacientes con sepsis, con una especificidad y valor predictivo positivo equiparable.

Dentro de los marcadores bioquímicos disponibles, la PCT fue la que obtuvo un mayor rendimiento diagnóstico, evidenciado en las tablas de contingencia, con una adecuada sensibilidad y especificidad. En la elaboración de la curva *ROC*, fue la variable que obtuvo una mayor área bajo la curva, lo cual reitera su validez como herramienta diagnóstica.

Por otro lado, la PCR mostró en las tablas de contingencia una sensibilidad y especificidad marcadamente menores. Del mismo modo, en la curva *ROC*, mostró un área de la curva estadísticamente menor que la PCT, por lo que su rendimiento diagnóstico se consideró inferior como marcador único.

La toma seriada de dos mediciones de PCR tampoco mostró superioridad respecto a la medición única de PCT, pues tuvo resultados menores en sensibilidad, especificidad, así como valores predictivos positivo y negativo. Dado que la medición seriada de PCR se consideró como un constructo en el cual sólo se otorgó un resultado positivo o negativo (y por ende, es

una variable dicotómica), no es posible realizar una comparación de ambas herramientas mediante curvas *ROC*.

La presencia de una biometría hemática alterada (leucocitosis/leucopenia, trombocitosis/trombocitopenia, bandemia) tuvo un buen rendimiento diagnóstico, que aunque menor que el de la PCT, tiene la utilidad de presentar una excelente especificidad y valor predictivo positivo, por lo que posee una adecuada capacidad de discernir a los sujetos sanos de aquellos con enfermedad al encontrarse la prueba negativa. Al igual que con la PCT seriada, la presencia de una biometría normal o alterada sólo puede ser plasmado como una prueba positiva o negativa (y por ende dicotómica), por lo que no posee la capacidad de ser contrastada de forma directa con la PCT a través de curvas *ROC*.

El índice banda/neutrófilo resultó tener un rendimiento diagnóstico equiparable a una medición única de PCT. A pesar de tener una sensibilidad y especificidad menores, se realizó un análisis estadístico a través de curvas *ROC*, obteniendo una igualdad estadísticamente significativa en la prueba Chi² estadística de área bajo la curva, concluyendo que existe un poder diagnóstico semejante entre la PCT y el índice banda/neutrófilo. Así mismo, la alta especificidad tiene la cualidad de identificar correctamente a los individuos sanos, misma cualidad que se observa en la PCT.

Una consideración importante de realizar la medición exclusiva de la relación de formas inmaduras y número de neutrófilos es que se eliminan factores confusores en comparación con la propuesta previa de tomar una biometría hemática normal o alterada. Por ejemplo, la trombocitopenia asociada a una mala toma o procesamiento de muestra o la leucocitosis asociada a factores como disminución de volumen circulante (como podría ocurrir en un recién nacido con deshidratación severa), se excluyen de la ecuación. El índice banda/neutrófilo, es por tanto una variable con mayor validez y que sólo depende de una única línea celular.

Los constructos, al ser constantes dicotómicas, no pudieron ser evaluadas de forma estadística con curvas *ROC* contra la PCT. Sin embargo, las diferentes combinaciones mostraron resultados variados.

La combinación de PCR positiva con una biometría hemática alterada aumento la sensibilidad de la prueba a 100%, aunque con una menor especificidad que la PCT, con sólo un 65%. Se puede concluir que asociar la medición de PCR y biometría hemática aumenta la detección de sujetos con la enfermedad, aunque aumenta la fracción de fracción de falsos positivos. Sin embargo, en un paciente con alta sospecha de sepsis neonatal, y en ausencia de auxiliares

diagnósticos como la PCT, se puede incrementar la detección de los casos si se dispone de PCR y una biometría hemática.

Ya que la leucopenia fue el hallazgo más frecuente en las alteraciones hematológicas, fue la variable escogida para ser asociada a la PCR. La asociación de PCR y leucopenia tuvo también resultados alentadores. La sensibilidad se reportó en 80% (comparada con 86.7% de la PCT) y especificidad de 80% (comparada con 100% de la PCT). Si bien es comparablemente menor, tiene un mejor rendimiento que la medición aislada de PCR o que sólo la valoración de una biometría hemática. Respecto al constructo previamente descrito (de PCR y biometría hemática alterada), disminuyó la sensibilidad, pero aumentó la especificidad, por lo que tiene aún una buena forma de discernir los sujetos de enfermedad, con menor tasa de falsos positivos.

Por último, la asociación de PCR y el índice banda/neutrófilo mostró un resultado intermedio. Aumentó la sensibilidad obtenida de las mediciones de PCR y el índice banda neutrófilo de forma independiente, aunque mantuvo la especificidad de la PCR.

De forma global, la realización de constructos entre variables previamente estudiadas de forma individual, asociando aquellas con mejor rendimiento, aumentó significativamente la sensibilidad, llegando a ser incluso mayor que la PCT, aunque disminuyó moderadamente la especificidad comparada con cada variable de forma aislada.

Aunque no fue posible comparar estadísticamente dichos constructos contra la PCT a través de curvas *ROC*, es evidente la utilidad de la asociación de dos marcadores con mediana sensibilidad y especificidad para mejorar su rendimiento diagnóstico.

Discusión

El trabajo en curso busca innovar en la creación de herramientas diagnósticas clínicamente útiles y estadísticamente significativas en la detección oportuna y efectiva de pacientes con sepsis neonatal.

A diferencia de la gran mayoría de los estudios y líneas de investigación, que buscan encontrar nuevas moléculas que puedan ser validadas para mejorar la detección de la sepsis neonatal, el objetivo de este trabajo fue optimizar la utilización de las herramientas ya disponibles en un afán de optimizar su rendimiento diagnóstico como conjunto.

Fue posible observar cómo el uso del índice banda/neutrófilo como un marcador individual, posee estadísticamente el mismo poder diagnóstico que la procalcitonina, a pesar de haberse descrito de forma inicial con una sensibilidad menor. Esto podría permitir que la interpretación de la biometría hemática en pacientes con sospecha de sepsis neonatal, atendidos en servicios sanitarios con deficiencias de insumos, orientara el diagnóstico y la terapéutica de dichos pacientes.

La ideación de constructos diagnósticos a partir de asociación de variables individuales, como la PCR, la leucopenia o el índice banda/neutrófilo para mejorar el rendimiento diagnóstico de cada uno de los marcadores de forma independiente es algo que no se ha descrito en el campo de estudio de sepsis neonatal hasta el momento.

Si bien, por las características de los constructos como una prueba con un resultado dicotómico, no fue posible realizar una comparación estadística con la procalcitonina, el marcador biológico por excelencia, a través de curvas *ROC*, fue evidente en el análisis de resultados que la utilización de constructos, en particular el conformado por PCR asociado a leucopenia en la biometría hemática, son herramientas diagnósticas prometedoras que merecen de una investigación más extensa en el campo de la sepsis neonatal.

Conclusiones

La sepsis neonatal es un problema importante de salud pública, que tiende a ser más frecuente y con mayor impacto en la mortalidad neonatal en países en vías de desarrollo. La dificultad del diagnóstico y el retraso del mismo es un factor importante en el impacto que tiene la sepsis en la alta tasa de mortalidad dentro de los primeros días de vida.

Si bien, el estándar de oro en el diagnóstico de sepsis neonatal es el cultivo microbiológico de los agentes patógenos que lo causan, no es una prueba diagnóstica perfecta, además de que el resultado tardío de los cultivos no permite usar el estándar de oro para la toma de decisiones durante las primeras y cruciales horas del paciente con sepsis neonatal.

Existe una amplia línea de investigación sobre marcadores biológicos que posean la cualidad de ser accesibles, rápidos, con alta sensibilidad y especificidad para discernir con la mayor certeza posible a los pacientes con sepsis neonatal de aquellos que no la tengan. Hasta el momento, no existe una herramienta diagnóstica, que aislada, pueda cumplir con las necesidades de un marcador idóneo para la sepsis neonatal.

La procalcitonina (PCT) ha sido un parte aguas en el diagnóstico de sepsis neonatal, siendo, en la actualidad, el marcador biológico con mayor certeza diagnóstica, con la gran ventaja sobre el cultivo de resultados más tempranos que pueden afectar en el manejo terapéutico de los pacientes. Sin embargo, además del costo, existe un problema de accesibilidad, que puede limitar el uso en la práctica clínica más generalizada.

El propósito de este estudio se basó en la obtención de una herramienta diagnóstica que fuera comparable a la PCT en término de sensibilidad y especificidad, pero con mayor accesibilidad de costos e insumos. La construcción de combinaciones entre la proteína C reactiva (PCR) con parámetros sugestivos de infección e la biometría hemática buscó aumentar la sensibilidad y especificidad de ambos marcadores como pruebas individuales, mejorando así el poder diagnóstico del constructo como prueba diagnóstica.

Se demostró de forma estadísticamente significativa que la PCR tiene un poder diagnóstico menor que la PCT de forma aislada e incluso en mediciones consecutivas. Sorprendentemente, el índice banda/neutrófilo, una relación entre las formas inmaduras y los neutrófilos totales, que fácilmente puede ser obtenida a partir de una universalmente accesible biometría hemática,

tiene un poder diagnóstico estadísticamente equiparable a la medición de PCT en el paciente con sepsis.

De la misma forma, la asociación de variables como la leucopenia o el índice banda/neutrófilo con la medición de PCR, puede aumentar de forma significativa la sensibilidad respecto a las pruebas de forma aislada, con una leve disminución de su especificidad, mejorando notablemente su rendimiento diagnóstico. Este hallazgo es de utilidad en los servicios de salud donde no se cuenta con disponibilidad de recursos auxiliares al diagnóstico como lo es la procalcitonina y menos aún, con otros marcadores más novedosos como lo son las interleucinas.

Si bien, dentro del estudio se encontraron limitaciones metodológicas que disminuyen su aplicabilidad, los resultados obtenidos son de importancia para continuar la investigación sobre nuevos enfoques en herramientas diagnósticas, que mejore la detección y el tratamiento oportuno, y consecuentemente, el pronóstico de los pacientes con sepsis neonatal.

Limitaciones del estudio

El principal factor limitante de este estudio es el tamaño de muestra (N) obtenida. Si bien, es factible realizar las pruebas estadísticas y determinar el poder diagnóstico de los diferentes marcadores para la población estudiada y tener validez para dicho conjunto de pacientes, al tener una muestra no significativa, la reproducibilidad de los resultados puede no ser equiparable al aumentar N .

Otro factor a considerar es la heterogeneidad de los pacientes estudiados. Para la realización de estudio de prueba diagnóstica, sería ideal obtener, además de un adecuado tamaño de muestra, una población tan homogénea como sea posible, para evitar sesgos o factores confusores. En el caso de la población obtenida para este estudio, existió variabilidad en diversas características de los pacientes. Si bien, la muestra no es la idealizada, su heterogeneidad no es del todo perjudicial. Al no excluir pacientes por características como la edad gestacional, el género, el peso al nacimiento o las patologías médicas asociadas, no se redujo la muestra de forma más extensa por factores no fundamentales en el estudio y se valoró más la presencia de la medición de los marcadores diagnósticos y los criterios de sepsis para la inclusión de los sujetos a la población estudiada.

Así mismo, la aplicación de un marcador diagnóstico a una población más extensamente diversificada, permite que la herramienta sea probada en pacientes con diferentes características y estudiar su validez como prueba diagnóstica independientemente de dichos factores. Por ejemplo, de excluir a los pacientes con prematurez, las pruebas sólo serían aplicadas y validadas en recién nacidos de término y por ende, se excluiría una población de relevancia incuestionable en la práctica médica cotidiana. Del mismo modo, la aplicación del panel de pruebas diagnósticas tanto en pacientes sanos o con patologías asociadas permite evitar el sesgo de selección de pacientes y validar su aplicación en una población mucho más extensa.

Cronograma de actividades

Fecha	Actividad
Enero de 2017	Introducción y objetivos
Febrero de 2017	Marco teórico y metodología
Marzo de 2017	Definición de población y muestra
Abril de 2017	Recolección de datos
Abril de 2018	Análisis de resultados y conclusión
Junio de 2018	Entrega de trabajo final

Referencias bibliográficas

Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998;102:E41.

Genesan H., Shanmugam P., Abdul Sattar S., Evaluation of IL-6, CRP and hs CRP as early biomarkers of neonatal sepsis, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2016, Vol 10-(5)

Mishra UK, Jacobs SE, Doyle LW, et al. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006; 91:F208–F212.

Hisamuddin E, Hisam A, Wahid S, Raza G. *Validity of C-reactive protein (CRP) for diagnosis of neonatal sepsis*. *Pak J Med Sci* 2015;31(3):527-531. doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.313.6668>.

Pérez R., Lona J., Quiles M., *Sepsis neonatal temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un hospital público del occidente de México*, 2015, *Revista Chilena de Infectología*, 32 (4), 387-392.

Remington JS, Klein JO, Wilson CB, et al. *Infectious diseases of the fetus and newborn: expert consult—online and print*. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2010.

Chiesa C., Pacifico L., *Early onset neonatal sepsis: still room for improvement in procalcitonin diagnostic accuracy studies*, 2015, *Medicine*, volume 94, number 30.

Huang F., Chen H., *Bird's Eye View of a Neonatologist: Clinical Approach to Emergency Neonatal Infection*, *Pediatrics and Neonatology* (2016) 57, 167e173

Guías clínicas del departamento de Neonatología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, 2011.

McIntosh Neil, *Forfar and Arnolds Textbook of Pediatrics*, 7th edition, Elsevier, 2008, United States of America.

Rodríguez, W. *Neonatología Clínica*, 1^o edición, McGraw Hill, 2004, México.

Martínez-González M., *Bioestadística amigable*, 2^o edición, 2006, Ediciones Díaz de Santos, España.

Sánchez Pedraza R., *Aspectos sobre el diseño y tamaño de muestra en estudios de prueba diagnóstica*, Universidad Nacional de Colombia, *Revista de la facultad de medicina*, 2001, 49 (3); 175-180.

Gleason C., *Avery, diseases of the newborn*, 9^o edition, Elsevier, 2012, Philadelphia, United States of America.

Anexos

Test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
CRP	60–82	93–96	95–100	75–87
CRP, FBC, gastric aspirate	97	61	53	98
Procalcitonin	82–100	87–100	86–98	93–100
CD11b	96–100	81–100	22–100	100
CD64	64–97	72–96	64–88	84–98
CD64, IL-6 or CRP	81–97	71–87	63–74	86–98
GCSF \geq 200 pg/ml	95	73	40	99
Umbilical cord IL-6	87–90	93	93	93–100
IL-6	67–89	89–96	84–95	77–91
IL-6 and/or CRP	93	88–96	86–95	95
IL-8	80–91	76–100	70–74	91–95
IL-8 and/or CRP	80	87	68	93
PCR for genomic DNA in blood culture	100	100	100	100

CRP, C-reactive protein; FBC, full blood count; GCSF, granulocyte colony-stimulating factor; IL-6, interleukin 6; IL-8, interleukin 8; PCR, polymerase chain reaction.

Tabla 1: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de diversos biomarcadores y la combinación de éstos. (tomada de Mishra UK, Jacobs SE, Doyle LW, et al. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2006; 91:F208–F212).

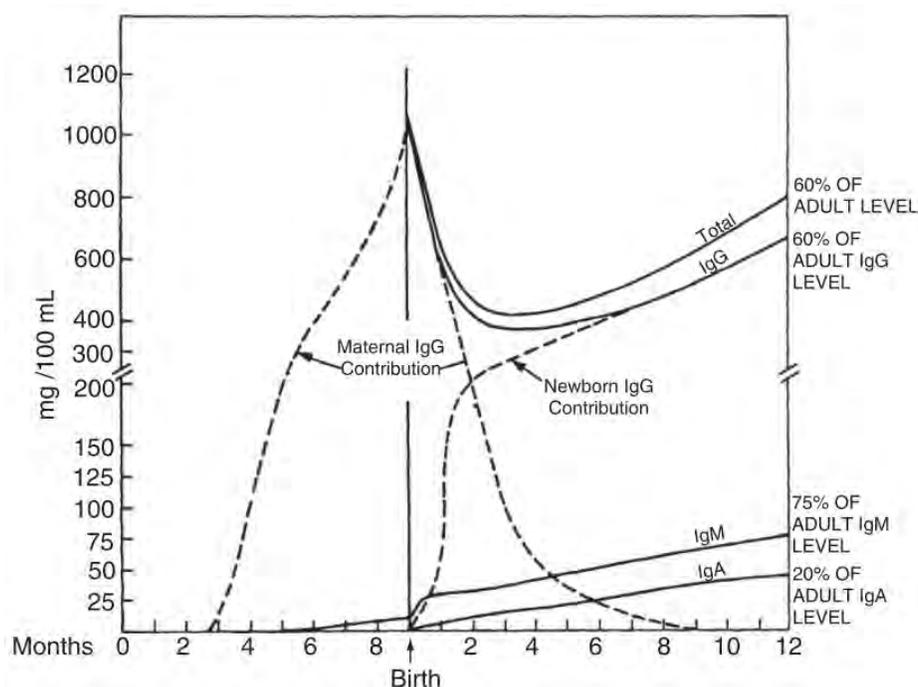


Figura 1: Contribución materna de IgG en recién nacido y neonato. Tomada de Wilson CB, Lewis DB, Penix LA. The physiologic immunodeficiency of immaturity. In Stiehm R, editor. Immunologic disorders in infants and children. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 1996. p. 253–295