



TESIS DE INFECTOLOGIA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"

“Modificación y validación de la escala de
NOSEP-1 para el diagnóstico de sepsis tardía en
recién nacidos prematuros menores de 1500g.”

TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

INFECTOLOGIA

PRESENTA: DRA. MARTHA ELENA ALMAGUER HERNÁNDEZ

TUTOR: DR. JESUS REYNA FIGUEROA

MÉXICO, D.F. 2007



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.



“Modificación y validación de la escala de NOSEP-1 para el diagnóstico de sepsis tardía en recién nacidos prematuros menores de 1500g: Fase de estandarización de Interleucina 6”

APROBRACIÓN DE TESIS

DR. ENRIQUE A. GOMEZ SANCHEZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”

DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE INFECTOLOGIA
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”

DR. JESUS REYNA FIGUEROA
DIRECTOR DE TESIS
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”



DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y la posibilidad de estar en el lugar adecuado en el momento indicado.

A todas las personas que de una u otra forma han hecho posible la realización de este proyecto.

A mi familia que siempre me ha brindado su apoyo incondicional

A Martha Morelos por la ayuda brindada para la terminación de esta tesis.



1. INDICE

1. INDICE	04
2. INDICE DE TABLAS, GRAFICAS O FIGURAS	05
3. INTRODUCCION	06
4. RESUMEN	07
5. ABSTRACT	08
6. PLANTEAMIENTO Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	09
7. MARCO TEORICO	10
8. OBJETIVO	14
9. HIPOTESIS	15
10. JUSTIFICACION	16
11. DISEÑO METODOLOGICO	17
12. RESULTADOS	20
13. DISCUSION	22
14. CONCLUSIONES	23
15. ANEXOS	24
Anexo 1: CEDULA DE RECOLECCION DE DATOS	24
16. BIBLIOGRAFIA	27



2. INDICE DE TABLAS, GRAFICAS O FIGURAS.

TABLA 1	18
TABLA 2	18
TABLA 3	20
TABLA 4	21
TABLA 5	21



3. INTRODUCCIÓN

En México la mortalidad neonatal representa 45.8% de todas las muertes ocurridas en el 1^{er} año de vida y 74.4% de las registradas en los primeros 28 días, con una tasa de mortalidad neonatal precoz de 7.7/1000 nacidos vivos.

En el Instituto Nacional de Perinatología se reportan tasas de mortalidad de 17.3/1000 nacidos vivos, con una tasa de mortalidad para menores de 1500gr la tasa es de 626/1000 nacidos vivos.

Dado los altos rangos de mortalidad por sepsis en recién nacidos de muy bajo peso al nacer, se hace importante un diagnóstico y terapéutica apropiada oportuna para mejorar el pronóstico de estos pacientes. Sin embargo en la práctica clínica el diagnóstico de sepsis neonatal nosocomial es difícil ya que este se basa en criterios clínicos y de laboratorio que son inespecíficos y el tratamiento se inicia inmediatamente en forma empírica lo que conlleva a un uso indiscriminado de medicamentos antibióticos y por ende un incremento en las resistencias microbianas.

Es evidente por tanto la necesidad de contar con indicadores tempranos de infección en el neonato, sobre todo si se considera la rapidez con la que una infección local puede convertirse en sistémica y derivar en sepsis durante el primer mes de vida. Pese a esto el hemocultivo continua siendo el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis, a expensas de tener una baja sensibilidad (50-60%). Es por esto que en las últimas décadas se han desarrollado sistemas de puntuación como la escala de NOSEP-1, la cual esta compuesta por 1 factor de riesgo (uso de NPT mayor a 14 días) 1 criterio clínico (Fiebre mayor a 38.2°C) y 3 criterios de laboratorio (PCR >14mg/dl, neutrofilos >50% y trombocitopenia <150x10⁹/l) a los cuales se les otorgo un puntaje de acuerdo a los OR obtenidos y se considera positivo para sepsis nosocomial cuando se obtiene un valor mayor a 8, con una sensibilidad del 95%, especificidad del 43%, valor predictivo positivo 54% y valor predictivo negativo de 93%.

En el Instituto Nacional de Perinatología se validó la escala de NOSEP-1 en recién nacidos prematuros de muy bajo peso al nacer con sospecha de sepsis neonatal tardía, obteniéndose una sensibilidad del 62.7%, especificidad 70%, valor predictivo positivo 53.8% y valor predictivo negativo 50%, encontrándose al igual que en el estudio original algunas limitaciones como el tamaño de la muestra, y un número reducido de pacientes con infección por microorganismos Gram negativos. Es importante hacer notar que la sensibilidad, especificidad y valores predictivos encontrados en este estudio son menores a los reportados en el estudio original, siendo probable que esto pudiera mejorar al integrar a la escala algunas modificaciones basadas en las alteraciones de los parámetros propios de la edad, sugestivos de sepsis nosocomial en recién nacidos de muy bajo peso al nacer.



4. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Es evidente la necesidad de contar con indicadores tempranos de infección en el neonato, sobre todo si se considera la rapidez con la que una infección local puede convertirse en sistémica y derivar en sepsis durante el primer mes de vida. El hemocultivo continua siendo el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis, a expensas de tener una baja sensibilidad (50-60%) y el inconveniente de requerir largo tiempo de espera para obtener resultados. Es por esto que en las últimas décadas se han desarrollado sistemas de puntuación como la escala de NOSEP-1, la cual esta compuesta por 1 factor de riesgo (uso de NPT mayor a 14 días) 1 criterio clínico (Fiebre mayor a 38.2°C) y 3 criterios de laboratorio (PCR >14mg/dl, neutrofilos >50% y trombocitopenia <150x10⁹/l) a los cuales se les otorgo un puntaje de acuerdo a los OR obtenidos y se considera positivo para sepsis nosocomial cuando se obtiene un valor mayor a 8, con una sensibilidad del 95%, especificidad del 43%, valor predictivo positivo 54% y valor predictivo negativo de 93%.

OBJETIVO: Determinar si las modificaciones a las variables de la escala de NOSEP-1 tienen una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo mayor en el diagnóstico de sepsis neonatal tardía en recién nacidos menores de 1500grs.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se incluyeron en el estudio los recién nacidos menores de 37 semanas de gestación y peso al nacimiento menor de 1500grs que contaron con más de 48hrs de estancia en la UCIN o UCIREN y presentaron sospecha de sepsis neonatal a los cuales se les tomo biometría hemática completa, proteína C reactiva, Interleucina 6 y hemocultivo al momento de inicio de los síntomas y se les aplicó la escala NOSEP-1 y NOSEP-1 modificada. Dado que la Interleucina 6 es una prueba que no se realiza de manera rutinaria en el INPerIER, se procedió a realizar la estandarización de la prueba a través de inmunoanálisis enzimático por quimioluminiscencia.

RESULTADOS: Las curvas para ajustador alto y bajo de Interleucina se encontraron dentro del límite permitido para la misma. Al realizar la medición de de Interleucina 6 con un suero control de valor conocido el resultado se encontró dentro de los rangos esperados.

CONCLUSIONES: La estandarización de la medición de Interleucina 6 por medio de inmunoanálisis enzimático nos servirá como punto de partida para un futuro análisis de esta prueba, que al conjuntarla con datos clínicos y de laboratorio nos podrá servir como escala diagnóstica para sepsis neonatal nosocomial.



5. ABSTRACT

INTRODUCTION: The necessity is evident to count on early indicators of infection in the newborn, mainly if is considered the rapidity with which a local infection can become disseminate and derive in sepsis during the first month from life. The blood culture being continuous the gold standard for the diagnosis from sepsis, to expenses to have the low sensitivity (50-60%) and the disadvantage of requiring length time of delay to obtain results. Is by this, that in the last decades systems of score like the NOSEP-1 scale have been developed, which this composed by 1 factor of risk (use of NPT greater to 14 days) 1 clinical criterion (greater Fever to 38.2°C) and 3 criteria of laboratory (PCR >14mg/dl, neutrophils >50% and thrombocytopenia).

OBJECTIVE: To determine if the modifications to the variables of the NOSEP-1 scale have a sensitivity, specificity, positive predictive value and greater negative predictive value in the diagnosis of delayed neonatal sepsis in new born smaller of 1500grs.

MATERIAL AND METHODS: Were included in the study newborn of ≤ 37 weeks of gestation and weight to birth of ≤ 1500 grs than counted with more of 48hrs of stay in UCIN or UCIREN and presented suspicion of neonatal sepsis to which complete blood cell, C reactive protein, blood culture, Interleukin 6 were collected at the time of beginning of the symptoms and was applied modified scale to them NOSEP-1 and NOSEP-1. Since Interleucina 6 is a test that is not made of routine way in the INPerIER, it was come to make the standardization of the test through enzymatic immunometric assay by chemiluminescent.

RESULTS: The curves for high and low adjustment for Interleukin 6 were within the limit allowed for the same one. When making the measurement of Interleukin 6 with a serum control of well-known value the result was within the awaited ranks.

CONCLUSIONS: The standardization of the measurement of Interleucina 6 by means of enzymatic immunometric assay will serve us like departure point for a future analysis as this test, that when combining it with clinical data and of laboratory it will be able to serve to us like diagnosis scale for nosocomial neonatal sepsis.



6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Si se realizan modificaciones a las variables de la escala de NOSEP-1 se tendrá una mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de sepsis neonatal tardía en recién nacidos menores de 1500grs?



7. MARCO TEORICO

Aunque los avances en cuidados intensivos neonatales han sido asombrosos en los últimos 30 años, llegando a proveer una mayor sobrevivencia de los recién nacidos de muy bajo peso al nacer (peso al nacimiento menor a 1500grs), las complicaciones y estigmas en ellos, son también mayores, en muchos casos como consecuencia del manejo agresivo e intervencionista que amerita su especial condición. Dentro de estas complicaciones, la sepsis neonatal nosocomial, continua siendo una importante causa de morbi-mortalidad en todo el mundo, ocurriendo en rangos de incidencia de 11.5-32.4%.¹⁻⁸

En México la mortalidad neonatal representa 45.8% de todas las muertes ocurridas en el 1^{er} año de vida y 74.4% de las registradas en los primeros 28 días, con una tasa de mortalidad neonatal precoz de 7.7/1000 nacidos vivos.⁹⁻¹¹

En el Instituto Nacional de Perinatología se reportan tasas de mortalidad de 17.3/1000 nacidos vivos, con una tasa de mortalidad para menores de 1500gr la tasa es de 626/1000 nacidos vivos. Las cifras altas de mortalidad y sepsis neonatal reportadas en este Instituto pueden deberse a las características de la población estudiada, ya que es un centro de referencia en donde se atienden embarazos de alto riesgo.⁹⁻¹¹

Dado los altos rangos de mortalidad por sepsis en recién nacidos de muy bajo peso al nacer, se hace importante un diagnóstico y terapéutica apropiada oportuna para mejorar el pronóstico de estos pacientes. Sin embargo en la práctica clínica el diagnóstico de sepsis neonatal nosocomial es difícil ya que este se basa en criterios clínicos y de laboratorio que son inespecíficos y el tratamiento se inicia inmediatamente en forma empírica lo que conlleva a un uso indiscriminado de medicamentos antibióticos y por ende un incremento en las resistencias microbianas.¹²⁻¹⁴

Es evidente por tanto la necesidad de contar con indicadores tempranos de infección en el neonato, sobre todo si se considera la rapidez con la que una infección local puede convertirse en sistémica y derivar en sepsis durante el primer mes de vida.⁸ Pese a esto el hemocultivo continua siendo el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis, a expensas de tener una baja sensibilidad (50-60%). Es por esto que en las últimas décadas se han desarrollado sistemas de puntuación como la escala de NOSEP-1, la cual esta compuesta por 1 factor de riesgo (uso de NPT mayor a 14 días) 1 criterio clínico (Fiebre mayor a 38.2°C) y 3 criterios de laboratorio (PCR >14mg/dl, neutrofilos >50% y trombocitopenia <150x10⁹/l) a los cuales se les otorgo un puntaje de acuerdo a los OR obtenidos y se considera positivo para sepsis nosocomial cuando se obtiene un valor mayor a 8, con una sensibilidad del 95%, especificidad del 43%, valor predictivo positivo 54% y valor predictivo negativo de 93%.(TABLA 1)¹⁵⁻¹⁶



En el Instituto Nacional de Perinatología se validó la escala de NOSEP-1 en recién nacidos prematuros de muy bajo peso al nacer con sospecha de sepsis neonatal tardía, obteniéndose una sensibilidad del 62.7%, especificidad 70%, valor predictivo positivo 53.8% y valor predictivo negativo 50%, encontrándose al igual que en el estudio original algunas limitaciones como el tamaño de la muestra, y un número reducido de pacientes con infección por microorganismos Gram negativos.¹³ Es importante hacer notar que la sensibilidad, especificidad y valores predictivos encontrados en este estudio son menores a los reportados en el estudio original, siendo probable que esto pudiera mejorar al integrar a la escala algunas modificaciones basadas en las alteraciones de los parámetros propios de la edad, sugestivos de sepsis nosocomial en recién nacidos de muy bajo peso al nacer.

Dentro de los datos clínicos que nos sugieren un proceso infeccioso, la inestabilidad térmica ha destacado como uno de los principales, estableciéndose en el Consenso Internacional de Sepsis Pediátrica publicado en el año 2005, como parte del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y determinándose como la presencia de temperatura mayor a 38.5°C o menor a 36°C. Dado que en los recién nacidos pretérmino es más común la presencia de hipotermia (por una mayor pérdida de calor, principalmente a través de la evaporación, así como mecanismos termorreguladores ausentes o muy disminuidos) más que de fiebre como dato de sepsis sería importante considerar la hipotermia dentro de los datos clínicos de la escala así como hacer la diferencia entre temperatura mínima para recién nacido de término que se ha establecido en 36°C y en recién nacido pretérmino de muy bajo peso al nacer que se establece en 36.5°C.^{4,13-14,17-19}

Dentro de las pruebas de laboratorio más frecuentemente utilizadas en el diagnóstico de sepsis neonatal, se encuentra la cuenta de leucocitos y de esta en especial la cuenta de neutrófilos totales, bandas totales y relación banda neutrófilos. Los rangos considerados normales son muy variados y dependen de la edad gestacional y postnatal al momento de la toma de la muestra. Se considera en general neutropenia en recién nacidos pretérmino conteos menores a 4,000cel/mm³ neutrófilos totales en las primeras 48hrs de vida y menores a 1500cel/mm³ posterior a los 3 días de vida y para recién nacidos de término conteos menores a 2000cel/mm³ en las primeras 48hrs y menores a 1500cel/mm³.^{4,20-22} Otra prueba de laboratorio frecuentemente utilizada para complementar el diagnóstico de sepsis es el conteo de plaquetas, las cuales también difiere en cuanto a la edad gestacional, considerándose plaquetopenia en recién nacidos pretérmino conteos menores a 100,000cel/mm³ y en recién nacidos de término conteos de menos de 150,000cel/mm³, siendo importante considerar estas variaciones en la aplicación de la escala NOSEP-1.²¹⁻²⁴

Sin embargo ninguna de estas pruebas a mostrado por si sola ser consistente con diagnóstico de sepsis neonatal y dado las inconsistencias en la clínica para el diagnóstico de sepsis, en los últimos años, se ha vuelto la vista a las citocinas



inflamatorias, siendo las principalmente estudiadas el factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa), interleucina 6 (IL-6), (interleucina 8) IL-8 y procalcitonina. En un estudio multicéntrico prospectivo realizado por Kuster y col. en el año 1997, en recién nacidos de muy bajo peso al nacer, se observó un incremento significativo del antagonista de IL-1 y de IL-6 dos días antes del diagnóstico clínico de sepsis, sugiriendo que estas citocinas pueden ser de utilidad para apoyar una decisión clínica e iniciar tratamiento con antibióticos en forma más oportuna en los neonatos con alto riesgo de desarrollar sepsis.^{8, 25-28}

La interleucina 6 (IL-6) es una proteína de 184 aminoácidos. Su gen es de aproximadamente 5Kb y en el humano se localiza en el cromosoma 7p21. Parece ser ambos marcador y mediador de sepsis. La producción de IL-6 es rápidamente inducida en el curso de una reacción inflamatoria aguda asociada con lesión, trauma, estrés, infección, muerte cerebral y otras situaciones. La inyección de endotoxina en humanos voluntarios resulta en niveles plasmáticos de IL-6 pico 2hrs posterior a la inyección. La liberación de IL-6 es estimulada por factor de necrosis tumoral e IL-1, pero persiste en el plasma por mucho más largo tiempo que estas otras citocinas proinflamatorias.²⁸ Estudios previos en recién nacidos con sepsis han reportado una sensibilidad entre 78-97% y especificidad de 70-96%, con valor predictivo positivo entre 40-94% y valor predictivo negativo de 78-98%, siendo su utilidad principalmente en las primeras 24hrs de diagnóstico clínico. En cuanto al valor de corte para sepsis en neonatos, se han determinado valores que van desde 18pg/ml hasta 500pg/ml siendo los más constantes entre 25.7-55pg/ml.³⁰⁻³⁷ En el Instituto Nacional de Perinatología en el año 2004 se determinó el valor de corte para IL-6 en 11pg/ml para el diagnóstico de sepsis en recién nacidos de término y pretérmino con una sensibilidad del 81.8%, especificidad del 90.9%, valor predictivo positivo de 81% y valor predictivo negativo de 90%.³⁸

Otra herramienta de laboratorio útil para el diagnóstico de sepsis, es la Proteína C reactiva, un reactante de fase aguda que se libera en condiciones no infecciosas como lesión tisular o inflamación y condiciones infecciosas y se ha utilizado como indicador de sepsis neonatal. Es sintetizada por el hígado y el mayor estímulo para su producción es la IL-6 junto con la IL-1 y el FNT alfa. La PCR es liberada 4-6hrs después del inicio del estímulo con un pico a las 24-48hrs, y posteriormente disminuye a través del tiempo en tanto se resuelve la inflamación.³⁹ Aunque un gran número de condiciones elevan la PCR en suero; en el neonato, la causa número uno de inflamación es la infección, por lo que esta ha sido utilizada ampliamente para el diagnóstico de sepsis. Los valores de corte que se han utilizado en recién nacidos van desde 6.1 a 20mg/l siendo el más comúnmente utilizado como indicador de sepsis valores mayores a 10mg/l. Tiene una sensibilidad que va desde 33-98%, especificidad de 54-96%, valor predictivo positivo de 83-97% y valor predictivo negativo de 58-98% variando de acuerdo al valor de corte utilizado y el autor.^{6, 30-31, 33-34, 36-37, 40-42}



En un estudio realizado por Doellner et al.³⁴ en 1998 se encontró que la asociación de IL-6 y PCR tenía una mayor sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo que el utilizarlas solas para el diagnóstico de sepsis. Por lo que al considerar la evidencia antes expuesta el presente estudio tiene como finalidad modificar la escala de NOSEP-1 tomando en cuenta: inestabilidad térmica (temperatura $>38.5^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$) y una nueva variable de laboratorio como es la IL-6; modificar los parámetros hematológicos (conteo total de neutrófilos y plaquetas) de acuerdo a la edad gestacional y edad posconcepcional del paciente, así como validar esta nueva herramienta para el diagnóstico de sepsis en recién nacidos de muy bajo peso al nacer en el Instituto Nacional de Perinatología.



8. OBJETIVO

Determinar si las modificaciones a las variables de la escala de NOSEP-1 tienen una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo mayor en el diagnóstico de sepsis neonatal tardía en recién nacidos menores de 1500grs.



9. HIPOTESIS

Si se realiza modificaciones a las variables de la escala de NOSEP-1 entonces la escala tendrá una mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de sepsis neonatal tardía en recién nacidos menores de 1500grs, que el original.



10. JUSTIFICACIÓN

La sepsis neonatal nosocomial es una de las infecciones más frecuentes a nivel hospitalario, sin embargo su diagnóstico es aun difícil dado la inespecificidad de las manifestaciones clínicas y la sensibilidad de las principales pruebas diagnósticas que se utilizan en la práctica diaria. El hemocultivo continua siendo el estándar de oro para el diagnóstico de sepsis neonatal, sin embargo dada su baja sensibilidad, se ha buscado nuevos métodos entre los cuales las escalas clínicas han tomado auge. La escala de NOSEP-1 ha destacado como una herramienta útil, de aplicación fácil y rápida el diagnóstico de sepsis en recién nacidos. Sin embargo al ser aplicada en neonatos de muy bajo peso al nacer su sensibilidad y especificidad se ven disminuidas dado que estos pacientes presentan características especiales para responder ante un estímulo infeccioso; dentro de estas la principal es su pobre respuesta a responder con fiebre ante una agresión, siendo más común la presencia de hipotermia por lo que sugerimos modificar el ítem fiebre por uno llamado alteraciones en la estabilidad térmica que incluya ambas posibilidades. En cuanto a las variables hematológicas los valores de neutropenia y trombocitopenia varían de acuerdo a la edad gestacional y días de vida del recién nacido por lo que es importante considerar estas variaciones en la escala. Además de estos parámetros existen otros parámetros de laboratorio como interleucina 6 que han mostrado una alta sensibilidad en el diagnóstico de sepsis que puede ser incluida como modificación.

La finalidad de estas modificaciones es fortalecer de manera temprana la impresión clínica del médico tratante y agilizar el establecimiento de una terapia antimicrobiana de manera oportuna.



11. DISEÑO METODOLÓGICO

DISEÑO DE ESTUDIO: Cohorte, transversal, comparativa. Fase de estandarización.

SITIO DE REALIZACIÓN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), Unidad de Cuidados Intermedios del Recién Nacido (UCIREN) y Laboratorio de Inmunología del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER)”

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO Y PROCEDIMIENTOS:

Se incluyeron en el estudio los recién nacidos menores de 37 semanas de gestación y peso al nacimiento menor de 1500grs que contaron con más de 48hrs de estancia en la UCIN o UCIREN y presentaron sospecha de sepsis neonatal para lo cual se tomaron en cuenta los siguientes datos clínicos:

Inestabilidad térmica (temperatura menor a 36.5°C o > 38.5°C)

Letargia

Irritabilidad

Disfunción gastrointestinal (intolerancia a la leche, vómito, distensión abdominal o evacuaciones con sangre)

Disfunción respiratoria (incremento progresivo en los requerimientos ventilatorios o de oxígeno en un paciente previamente estable, respiraciones apneicas, súbito incremento en la frecuencia respiratoria o taquipnea persistente (>60 respiraciones x minuto)

Disfunción cardiovascular (incremento o decremento súbito de la frecuencia cardíaca, taquicardia (>160/min.) o bradicardia (<100/min.) persistente, llenado capilar retardado (>3 segundos), hipotensión o súbito incremento en los requerimientos de apoyo inotrópico para mantener una presión arterial media >30mmHg)

Anormalidades bioquímicas o hematológicas (acidosis metabólica persistente (déficit de bases ≥ 10), hiperglucemia (>150mg/dl) o hipoglucemia (<60mg/dl), trombocitopenia (<100 000), leucopenia (<5000) o leucocitosis (>20000).

Los recién nacidos con antecedentes de madre con corioamnioitis, enfermedad febril durante el evento obstétrico o sospecha de infección puerperal, fueron excluidos. Los pacientes elegibles para el estudio se les tomo biometría hemática completa, proteína C reactiva, Interleucina 6 y hemocultivo al momento de inicio de los síntomas y se les aplicó la escala NOSEP-1 y NOSEP-1 modificada (TABLA 1, 2).

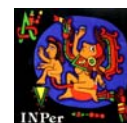


TABLA 1: Escala NOSEP-1

Variable	Puntuación
PCR >14mg/l	5
Neutrófilos >50%	3
Trombocitopenia $<150 < 10^9/l$	5
NPT >14 días	6
Fiebre $>38.2^{\circ}\text{C}$	5
Calificación (para diagnóstico de sepsis)	>8
Limite de 0-24	

Se obtuvieron datos demográficos generales del paciente, los cuales se muestran en la hoja de recolección de datos (ANEXO 1)

TABLA 2: Escala NOSEP-1 modificada con Interleucina 6

Variable	Valor	Puntuación
(1) Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	36.5	
	38.5	
NPT	>14d	
Neutrófilos	<1500 (6,7) >10000 (6)	
Plaquetas	<100000 (6) >300000 (6)	
PCR	>10	
IL-6	>11	

Los pacientes se dividieron en 3 grupos de acuerdo a los resultados de la evolución clínica y de laboratorio estableciéndose de la siguiente manera:

Sin sepsis nosocomial: Pacientes con hemocultivo negativo o a los que se les retiró tratamiento antibiótico a los 5 días o menos del tratamiento.

Sepsis clínica: Pacientes con hemocultivo negativo con al menos 2 criterios de respuesta inflamatoria sistémica y los cuales completaron al menos 10 días de tratamiento antibiótico.

Sepsis confirmada: Pacientes con hemocultivo positivo posterior a las 48hrs de estancia hospitalaria y al menos 2 datos clínicos o de laboratorio que definen síndrome de respuesta inflamatoria sistémica:

1. Temperatura corporal $>38.5^{\circ}\text{C}$ o menor a 36°C
2. Taquicardia definida como frecuencia cardiaca promedio mayor 180 latidos por minuto en ausencia de estímulos externos, medicamentos o estímulos dolorosos. O elevación persistente por arriba de 0.5-4hrs. Bradicardia definida como frecuencia cardiaca por debajo de 100 latidos por minuto en ausencia de estímulo vagal, medicamentos β -bloqueadores o enfermedad cardiaca congénita o bradicardia persistente por más de 0.5hr



3. Frecuencia respiratoria mayor a 50 por minuto o requerimientos de ventilación mecánica para un proceso agudo no relacionado a enfermedad neuromuscular o anestesia general
4. Conteo de células blancas por arriba de $34\,000\text{ cel/mm}^3$ para menores de 1 semana o menos de 19.500 cel/mm^3 , para pacientes de 1 semana a 1 mes, no secundaria a quimioterapia o más del 10% de formas inmaduras (Bandas)

Se consideró aislamiento de un microorganismo contaminante cuanto se presentó hemocultivo positivo sin datos clínicos en el paciente.

Se consideró como estándar de oro el hemocultivo más la presencia de por lo menos 2 datos clínicos y 2 de laboratorio que definen SIRS, según la adaptación de los criterios de Bone para pacientes pediátricos.¹⁰

El hemocultivo se analizó en el sistema automatizado Bact-alert (Organon Teknika Corp, Dirham, N:C) hasta obtener resultados positivos o negativos a crecimiento bacteriano por 10 días. A los cultivos positivos se les realizó tinción de Gram y se cultivaron en medios agar sangre de carnero al 5%, Mac Conkey, Sal manitol, agar chocolate y agar papa dextrosa y posteriormente se identificaron en el sistema automatizado microscan® (Organon Teknika Corp, Dirham, N:C). Se incluyó un grupo control de pacientes recién nacidos menores a 37SDG y más de 48 días de vida con sospecha de sepsis y hemocultivo negativo.

La determinación de Proteína C reactiva se midió a través de la determinación de antígenos solubles por método de nefelómetro, el cual envuelve una reacción de anticuerpo unido a partículas de látex lo cual forma complejos insolubles. Cuando la luz pasa a través de la suspensión formada, una porción de luz se dispersa y es detectada por el fotodiodo. La cantidad de la luz que se dispersa es directamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra. Las concentraciones son automáticamente calculadas por referencia a una curva calibrada contenida en el instrumento. Los rangos de medición van de 3.5-112mg/l en promedio con un límite de sensibilidad de 0.44mg/l.

Dado que en el Instituto Nacional de Perinatología no se procesa de forma rutinaria la Interleucina 6 se llevo a cabo la estandarización de la prueba a través de inmunoanálisis enzimático por quimioluminiscencia siendo la fase que se reporta en el presente estudio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO: Se realizará descripción de los hallazgos con medidas de resumen para variables cualitativas y cuantitativas.

Análisis de una prueba diagnóstica con cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, exactitud y razones de verosimilitud e intervalos de confianza.



12.- RESULTADOS

Para estandarización del procesamiento de la interleucina 6 se utilizó ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia, realizado en forma automatizada en equipo de la marca Immulite (DCP Cirrus Inc. Los Ángeles, California; E.U.) en el cual el límite mínimo de detección es de 2pg/ml.

Las muestras se procesaron en recipientes del sistema los cuales contienen anticuerpo monoclonal murino anti-Interleucina-6. El reactivo que se agrega es fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con un segundo anticuerpo monoclonal de oveja anti-Interleucina 6 en una solución tampón. 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 fosfatasa alcalina unida y se detecta en un fotomultiplicador.

Para realizar el ajuste de Interleucina 6 se introdujeron 4 controles bajos y 4 controles altos, los cuales pertenecieron al lote de kit 209, lote de ajustador 111, obteniéndose los resultados dentro del límite normal permitido para la curva de Interleucina 6. (TABLA 3).

Posteriormente se realizó la medición de 2 muestras de suero control con valor conocido para Interleucina 6, (marca Inmunotech a Beckman Coulter Company) lote 088, el cual proporciona valores de referencia de 38 a 102pg/ml, al cual se le realizó una dilución con agua bidestilada 1:2 con lo que se esperaban valores entre 19 a 51pg/ml obteniéndose resultados concordantes con el valor esperado. (TABLA 4).

TABLA 3: Resultado de ajustadores bajos y altos para Interleucina 6.

Interleucina 6 (Nivel)	Resultado
Interleucina 6 (ajustador bajo proporcionado como control por el equipo)	163449
Interleucina 6 (bajo 1)	134811
Interleucina 6 (bajo 2)	118520
Interleucina 6 (bajo 3)	131880
Interleucina 6 (bajo 4)	121249
Interleucina 6 (ajustador alto proporcionado como control por el equipo)	11697070
Interleucina 6 (alto 1)	8372821
Interleucina 6 (alto 2)	8424152
Interleucina 6 (alto 3)	8854030
Interleucina 6 (alto 4)	8366848



TABLA 4: Resultado de suero control para Interleucina 6

	Valor de Interleucina 6
Suero control 1	24.5pg/ml
Suero control 2	24.4pg/ml

Al contar con la estandarización de la prueba y obtención de valores de referencia concordantes, se procedió a la medición de muestra de suero humano para lo cual se utilizó 150µl de suero el cual se había mantenido en congelación a menos 20°C, posterior a la toma y hasta su procesamiento. En caso de que la muestra fuera menor a 150µl, se diluyó en una relación 1:2 ó 1:3 con albúmina humana al 2% (marca Ponder Sigma) con lo que se obtuvieron los resultados de Interleucina 6 que se utilizaran para la segunda fase del estudio. Al momento se han realizado 15 determinaciones de Interleucina 6 con la adición de un control de valor conocido al realizar el procesamiento de las muestras. (TABLA 5)

TABLA 5: Resultados de Interleucina 6 en muestras de suero humano

Paciente	Valor de Interleucina 6
Control	27.0 (valor esperado 19-51pg/ml)
1	21.5
2	15.1
3	3.6
4	10
5	23.2
6	3.3
7	76.7
8	37.8
9	9.5
10	84.3
11	21.4
12	22
13	225
14	9.5
15	<2



13. DISCUSIÓN

La utilidad de la Interleucina 6 como coadyuvante en el diagnóstico de la sepsis del recién nacido ha cobrado en los últimos años un papel determinante a favor de su sensibilidad. La aplicación que el clínico puede dar a esta prueba, es un punto importante que tiene que ver con la técnica usada para la determinación de la prueba. Los primeros estudios de Interleucina 6 utilizaron técnicas complejas con cultivos celulares o ELISA técnicas que dificultan, por cuestiones económicas y de tiempo, la determinación precoz.⁴³ Sin embargo en este estudio se utilizó el inmunoanálisis enzimático por quimioluminiscencia que permite una determinación en aproximadamente de 60 minutos, es una técnica que no incrementa los costos en relación a la previa y que tiene resultados comparables con técnicas mas complejas.⁴⁴



14. CONCLUSIONES

En este estudio se realizó la estandarización de la medición de Interleucina 6 por medio de inmunoanálisis enzimático lo cual no servirá como punto de partida para un futuro análisis de esta prueba, que al conjuntarla con datos clínicos y de laboratorio nos podrá servir como escala diagnóstica para sepsis neonatal tardía.



15. ANEXOS

ANEXO I: CÉDULA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha: _____
Nombre: _____ Registro _____
Edad _____ Sexo _____ Fecha de nacimiento _____ Peso _____
Talla _____ PC _____ Peso actual _____ APGAR _____ Balart o Capurro _____
Vía de Nacimiento _____ Líquido Amniótico _____
Edad materna _____ Gestas _____ Paras _____ Abortos _____ Cesareas _____
Patología Materna: _____

RPM _____ Horas _____ Esteroides _____ días _____
Uso de catéter _____ días _____ Catéter _____ días _____
Catéter _____ días _____ Catéter _____ días _____
NPT _____ días _____
Ventilación mecánica _____ días _____
VM _____ días _____ VM _____ días _____

Cirugías _____ Día _____
Días de Estancia hospitalaria _____
Diagnostico de Ingreso: _____

MANIFESTACIONES CLINICAS

FIEBRE	()	PETEQUIAS	()
HIPOTERMIA	()	SANGRADOS	()
D ABDOMINAL	()	ESCLEREDEMA	()
VOMITO	()	HIPOGLICEMIA	()
ICTERICIA	()	HIPERGLICEMIA	()
P. SUCCIÓN	()	A. METABOLICA	()
D. RESPIRATORIA	()	HEPATOMEGALIA	()
APNEAS	()	ESPLENOMEGALIA	()
PIEL MARMOREA	()	DIARREA	()
HIPOTONIA	()	CONJUNTIVITIS	()
CONVULSIONES	()	TAQUIPNEA	()
CIANOSIS	()	P. DE PESO	()
TAQUICARDIA	()	BRADICARDIA	()
OTRO	()	CUAL _____	



LABORATORIO

FECHA			
DVEU			
<i>HEMATOLOGIA</i>			
HB/HCT			
LEUCOCITOS			
NEUT/BANDAS			
R BANDA/NEU			
BASO/EOSI			
LINFOS/MONOS			
PLAQUETAS			
RETIS			
N. VACUOLAD			
G TOXICAS			
OTROS			
GLUCOSA			
<i>LCR</i>			
GLUCOSA			
PROTEINAS			
LEUCOCITOS			
PMN/MN			
CRENOCITOS			
GRAM			
PCR			
IL6			
Glucosa			

INFORMACIÓN MICROBIOLÓGICA

TRATAMIENTOS ANTIMICROBIANOS PREVIOS

AB _____ Días _____ AB _____ Días _____
AB _____ Días _____ AB _____ Días _____

TRATAMIENTOS UTILIZADOS AL MOMENTO DE LA SOSPECHA DE SEPSIS



16. BIBLIOGRAFÍA

1. Osrin D, Vergnano S, Costello A. Serious bacterial infections in newborn infants in developing countries. *Curr Opin Infec Dis* 2004;17:217-224.
2. Stoll B.J, Gordon T, Korones S.B, Shankaran S, Tyson J.E, Bauer C.R et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 1996;129:63-71.
3. Stoll B.J, Hansen N. Infections in VLBW infants: studies from the NICHD Neonatal Reserch Network. *Semin Perinatol*. 2003;27:293-301.
4. Fanaroff A.A, Korones S.B, Wright L.L, Verter J, Poland R.L, Bauer C.R, et al. Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset septicemia in very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:593-8
5. López-Sastre J.B, Coto-Cotallo D, Fernández-Colomex B. Neonatal sepsis of nosocomial origin: an epidemiological study from the Grupo de Hospitales Carrillo. *J Perinat Med*. 2002;30:149-157
6. Stoll B.J, Hansen N, Fanaroff A.A, Wright L.L, Carlo W.A, Ehrenkranz R.A. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates:The experience of the NICHD Neonatal Reserch Network. *Pediatrics* 2002;110:285-291
7. Makhoul I.R, Sujov P, Smolkin T, Lusky A, Reichman B. Epidemiological, clinical, and microbiological characteristics of late-onset sepsis among very low birth weight infants in Israel: A National survey. *Pediatrics* 2002;109:34-39
8. Mancilla-Ramírez J. Utilidad de las citocinas en el diagnóstico de sepsis neonatal. *Medicina basada en evidencias. Bol Med Hosp. Infant Mex* 2000; 57:581-8
9. Rivera-Rueda M.A, Hernández-Trejo M, Hernández-Peláez G, Llano-Rivas I, Di Castro-Stringher P, Illescas-Medrano E, et al. Analisis de la mortalidad neonatal precoz en el Instituto Nacional de Perinatología (1999-2001) *Perinatol Reprod Hum* 2005;19:13-21
10. Arredondo-García J.L, Ortiz-Ibarra F.J, Solorzano-Santos F, Segura Cervantes E, Beltran Zúñiga M. Etiología de la septicemia neonatal en una Unidad de Perinatología. Informe de siete años. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1994;54:317-323
11. Ramírez-Domínguez J. Sepsis neonatal bacteriana *Rev Perinatol* 1999;14:19-32.
12. Ng P.C, Li K, Leung T.P, Wong R.P.O, Li G, Chui K.M et al. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clinical Chemistry* 2006;52:1181-1189



13. Reyna-Figueroa J, Briseño-Vazquez R, Ortiz-Ibarra F.J. Validación de la escala de NOSEP-1 para el diagnóstico de sepsis nosocomial en recién nacidos prematuros menores de 1500g. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 2005;62:321-328
14. Goldstein, B; Giroir, B; Randolph, A. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6:2-8
15. Mahieu L.M, De Muynck A.O, De Dooy J.J, Laroche S.M, Van Acker K.J. Prediction of nosocomial sepsis in neonatos by means of a computer-weighted bedside scoring system (NOSEP score)” *Crit Care med* 2000;28:2016-2033
16. Mahieu L.M, De Dooy J.J, Cossey V.R, Goossens L.L, Vrancken S.L, Jespers A.Y, et al. Internal and external validation of the NOSEP prediction score for nosocomial sepsis in neonates. *Crit Care Med* 2002;30:1459-1466
17. Bonadio W.A. Incidence of serious infections in afebril neonates with a history of fever. *Pediatr Infect Dis J.*1987;6:911-4
18. Montes-Bueno T, De la Fuente-Calle P, Iglesias-Diz A, Bescos-Calvo C, Quílez-Cervera P, Madero-Jarabo R, et al. Repercusión del aseo en la estabilidad térmica del recién nacido de extremado bajo peso durante las primeras dos semanas de vida. *An Pediatr* 2005;63:5-13
19. Fransson A.L, Karlsson H, Nilsson K. Temperature variation in newborn babies: importance of physical contact with the mother. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 2005;90:F500-F504
20. Burrows R.F, Kelton J.G. Trombocitopenia perinatal. *Clínicas de Perinatología* 1995;3:733-734
21. Makhoul I.R, Smolkin T, Zinder O, Diamond E, Tamir A, Sujov P. Fast bedside measurement of blood count and C-reactive protein in neonates with suspected late-onset sepsis. *Acta Paediatrica* 2005;94:960-963
22. Remington J.S, Klein J.O, Wilson C.B, Baker C.J. Infectious diseases of the fetus and newborn infant.” 2006 Elsevier Saunders 6^{ta} edición:1208-1211
23. Burrows R.F, Kelton J.G. “Trombocitopenia perinatal. *Clínicas de Perinatología* 1995;3:733-734
24. Guida J.D, Kuning A.M, Leef K.H, McKenzie S.F, Paul D.A. Platelet count and sepsis in very low birth weight neonates: is there an organism-specific response?. *Pediatrics* 2003;111:1411-5
25. Mehr S, Doyle L.W. Cytokines as markers of bacterial sepsis in newborn infants: a review. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:879-87
26. Romagnoli C, Frezza S, Cingolani A, De Luca A, Puopolo M, Pia De Carolis M, et al. Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Eur J Pediatr.* 2001;160:345-350



27. Özdemir A, Oygür O, Gültekin M, Çoşkun M, Yeğın O. Neonatal tumor necrosis factor, interleukin-1 α , interleukin-1 β , and interleukin-6 response to infection. *Am J Perinatol* 1994;11:282-5
28. Song M, Kellum JA. Interleukin-6. *Crit Care Med.* 2005;33:S463-5
29. De Bont E.S.J.M, Martens A, Van Raan J, Samson G, Fetter W.P.F, Okken A, et al. Diagnostic value of plasma levels of tumor necrosis factor α (TNF α) and interleukin-6 (IL-6) in newborns with sepsis. *Acta Paediatr* 1994;83:696-9
30. Ng P.C, Cheng S.H, Chui K.M, Fok T.F, Wong M.Y, Wong W, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birth weight infants. *Arch Dis Child* 1997;77:F221-F227
31. Källman J, Ekholm L, Eriksson M, Malmström B, Schollin J. Contribution of interleukin-6 in distinguishing between mild respiratory diseases and neonatal sepsis in the newborn infant. *Acta paediatr* 1999;88:880-4
32. Silveira R.C, Procianoy R.S. Evaluation of interleukin-6, tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta paediatr* 1999;88:647-50
33. Küster H, Weiss M, Willcitner A.E, Detiefsen S, Jeremias I, Zbojan J, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet* 1998;352:1271-77
34. Doellner H, Arntzen K.J, Haereid P.E, Aag S, Austgulen R. Interleukin-6 concentration in neonates evaluated for sepsis. *J Pediatr* 1998;132:295-9
35. Hatzidaki E, Gourgiotis D, Manoura A, Korakaki E, Bossios A, Galanakis E, et al. Interleukin-6 in preterm premature rupture of membranes as an indicator of neonatal outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005;84:632-8
36. Laborada G, Rego M, Jain A, Guliano M, Stavola J, Ballabh P, et al. Diagnostic value of cytokines and C-reactive protein in the first 24 hours of neonatal sepsis. *Am J Perinatol* 2003;20:491-501
37. Vazzalwar R, Pina-Rodriguez E, Puppala B.L, Angst D.B, Schweig L. Procalcitonin as a screening test for late-onset sepsis in preterm very low birth weight infants. *J Perinatol* 2005;25:397-402
38. Villegas-Mota I. Eficacia de la Interleucina 6 en el diagnóstico de sepsis neonatal en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Tesis para obtener el título de Infectología 2005 UNAM.
39. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003;111:1805-12
40. Garland S.M, Bowman E.D. Reappraisal of C-reactive protein as a screening tool for neonatal sepsis. *Pathology* 2003;35:240-3
41. Enguix A, Rey C, Concha A, Medina A, Coto D, Angeles-Diéguez M. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for



the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med* 2001;27:211-5

42. Palmer A, Carlin J.B, Freihorst J, Gatchalian S, Muhe L, Mulholland K, et al. The use of CRP for diagnosing infections in young infants <3 months of age in developing countries. *Ann Tropical Paediatr* 2004;24:205-12
43. Doellner H, Vatten L, Austguten R. Early diagnostic markers for neonatal sepsis: Comparing C-reactive protein, interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptors and soluble adhesion molecules. *J Clin epidemiol* 2001; 54:1251-1257