



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**“PRUEBA RAPIDA DE PROCALCITONINA
SERICA PARA DETECCION
TEMPRANA DE SEPSIS NEONATAL”**

**T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGIA**

**P R E S E N T A:
DRA. MARICELA GARCIA BORJAS**

**DR. ENRIQUE SEGURA CERVANTES
PROFESOR TITULAR DEL CURSO**

**DRA. NOEMI PLAZOLA CAMACHO
DIRECTOR DE TESIS**

MEXICO D.F 2012





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.

AGRADECIMIENTOS

A mis compañeros por su apoyo.

Al servicio del laboratorio de inmunología por la realización de las pruebas.

A mi directora de tesis la Dra. Noemí Plazola Camacho por su esfuerzo y dedicación y por el espíritu de enseñanza que la caracteriza.

A mi compañera Dominique Arguelles Chávez por su amistad, porque juntas aprendimos y por su apoyo ilimitado.

A mi hermana por estar siempre en todo momento....

A mi esposo por su paciencia....

INDICE

I.	CAPITULO 1	
	Resumen.....	1
	Introducción.....	3
II.	CAPITULO 2	
	Planteamiento del problema.....	4
III.	CAPITULO 3	
	Marco Teórico.....	5
IV.	CAPITULO 4	
	Objetivo.....	11
	a) Objetivo general.....	11
	b) Objetivos específicos.....	11
	c) Hipótesis.....	11
	Justificación.....	12
V.	CAPITULO 5	
	Diseño metodológico.....	13
	a) Diseño del estudio.....	13
	Criterios de selección.....	14
	a) Criterios de inclusión.....	14
	b) Criterios de eliminación.....	14
	Tipo de muestra.....	14
	Descripción del procedimiento.....	15
	Análisis estadístico.....	16
VI.	CAPITULO 6	
	Resultados preliminares.....	17
	Discusión.....	18
VII	CAPITULO 7	
	Referencias bibliográficas.....	20

CAPITULO 1

RESUMEN

INTRODUCCION

La sepsis es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, con una incidencia anual de 50 a 100 casos por cada 100, 000 personas en los países industrializados. La tasa de mortalidad varía según los países, que va del 7% al 26% de los niños afectados. El diagnóstico precoz de la infección y la administración temprana de antibióticos puede reducir drásticamente la morbilidad y mortalidad. Procalcitonina es un péptido precursor de la calcitonina que muestra un aumento más temprano tras la infección y una disminución más rápida cuando la infección está controlada por el sistema inmune con el apoyo de terapia con antibióticos. La prueba rápida de Procalcitonina ofrece un resultado colorimétrico semicuantitativo el cual nos orienta de forma temprana para el inicio de antibióticoterapia.

OBJETIVOS

Conocer la utilidad de la prueba rápida de Procalcitonina para el diagnóstico de sepsis neonatal.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio de prueba diagnóstica, tomando una muestra de sangre de 500 microlitros a todos los pacientes con sospecha de sepsis que tenían criterios de inclusión, se consideraron dos grupos: el grupo de sepsis neonatal y el grupo de niños sin sepsis. La muestra de sangre tomada se centrifugó y se tomaron 200 microlitros de plasma. Se utilizó el kit de prueba y se valoraron los resultados de acuerdo a las tarjetas incluidas en el kit, las cuales contienen una escala de medición. Una vez documentado el resultado se dio el reporte a la brevedad con la finalidad de valorar el inicio o no de antibióticos.

RESULTADOS PRELIMINARES

Hasta el momento se han valorado 71 pacientes los cuales cumplían con los criterios de inclusión. De todos los pacientes 36 (50.7%) son femeninos y 35(49.2%) masculinos. De estos pacientes se realizaron 2 grupos, uno con sepsis donde se incluyeron 41 pacientes (57.7%) y otro sin sepsis en el que se incluyeron 30 pacientes (42.2%).

De los factores de riesgo para el desarrollo de infección, los más importantes fueron las infecciones de transmisión sexual con 19 (46.3%) casos, seguido por preclampsia, tanto moderada como severa, representado por 10 casos (24.9%). De los 41 pacientes con sepsis se realizó prueba rápida semicuantitativa de Procalcitonina, de los cuales de acuerdo a la escala de medición 23 fueron >0.5 ng/ml, 10 >2 ng/ml y 8 >10 ng /ml.

Cabe mencionar que del grupo de pacientes con sepsis todos presentaron síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y todos tuvieron valores de Procalcitonina positiva (mayor 0.5 ng/ml). De estos, solamente se aisló el microorganismo causal en 10 casos.

Se documentaron 2 defunciones del grupo de pacientes con sepsis, con aislamiento microbiológico (*E. faecium* y *H. influenzae* respectivamente) y con valor de Procalcitonina mayor de 10 ng/ml.

Sin embargo hasta este momento podemos decir que la prueba rápida semicuantitativa sérica de Procalcitonina es una herramienta adecuada que nos ha permitido valorar de forma integral a los pacientes.

En estos momentos estamos en fase de toma de las muestras sanguíneas y recolección de datos de los expedientes clínicos con el objetivo de obtener una muestra significativa.

CAPITULO 1

INTRODUCCION

La sepsis neonatal sigue siendo una de las principales causas de admisión hospitalaria. Esta condición tiene un inicio sutil y gradual, con síntomas no específicos que pueden comprometer gravemente a los niños si el estado clínico no se trata y puede conducir a consecuencias graves para la vida. La tasa de mortalidad varía según los países, que va del 7% al 26% de los niños afectados. El tratamiento precoz de la sepsis neonatal es vital para mejorar los resultados. En ausencia de marcadores confiables de infección durante las primeras horas la vida, a menudo, inician antibióticos de forma temprana en los recién nacidos con factores de riesgo de infección, exponiendo a los neonatos a tratamientos innecesarios.

Esta estrategia de tratamiento se debe a que el diagnóstico precoz de la sepsis es difícil, el aislamiento de microorganismos en cultivos microbiológicos requiere hasta 72 horas y no se identifica en la mayoría de los niños infectados. Procalcitonina (PCT), es un péptido de 116 aminoácidos y participa como precursor en la homeostasis del calcio, ha sido estudiado como marcador para diferenciar la sepsis de otras enfermedades no infecciosas.

En condiciones metabólicas normales, la actividad hormonal de calcitonina es producida y secretada en la células C de la glándula tiroides después de un proceso específico proteolítico intracelular de la pro-hormona PCT.

Sin embargo, en infecciones bacterianas graves y sepsis, los macrófagos y las células monocíticas de diversos órganos como el hígado, participan en la síntesis y liberación de PCT en respuesta a las infecciones bacterianas.

Entre los métodos diagnósticos actualmente usados se encuentra el BRAHMS PCT-Q, es una prueba basada en inmunocromatografía, principalmente para la detección semicuantitativa de Procalcitonina. El valor de PCT en suero es un marcador de severidad de sepsis o choque séptico, reportado para reducir los requerimientos de terapia antimicrobiana.

El propósito de este estudio es realizar una prueba rápida de Procalcitonina en suero de neonatos con sospecha de sepsis, el manejo de la prueba semicuantitativa PCT-Q, la sensibilidad y especificidad de este estudio, para el diagnóstico de sepsis al inicio de los síntomas en recién nacidos, con la finalidad del inicio temprano de la terapéutica antimicrobiana o bien evitar el uso indiscriminado de antibióticos.

CAPITULO 2

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La sepsis es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, con una incidencia anual de 50 a 100 casos por cada 100, 000 personas en los países industrializados. La tasa de mortalidad varía según los países, que va del 7% al 26% de los niños afectados.

El tratamiento precoz de la sepsis neonatal es vital para mejorar los resultados, actualmente existe una ausencia de marcadores confiables de infección durante las primeras horas de vida, a menudo, esto genera el inicio de antibióticos de forma temprana en los recién nacidos con factores de riesgo de infección, exponiendo a los neonatos a tratamientos innecesarios.

Esta estrategia de tratamiento se debe a que el diagnóstico precoz de la sepsis es difícil, el aislamiento de microorganismos en cultivos microbiológicos requiere hasta 72 horas y no se identifica en la mayoría de los niños infectados.

En el Instituto Nacional de Perinatología una de las principales causa de morbilidad y mortalidad es la sepsis, con una incidencia de sepsis tardía en el año 2008 de 121 casos, en 2009; 105 casos y 2010; 64 casos documentados. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*.

La prueba rápida de Procalcitonina se ha utilizado alrededor del mundo con resultados alentadores para el diagnóstico temprano de sepsis, sin embargo, en México no se cuenta con reportes sobre el uso de esta prueba en neonatos. Es por ello que se propone el uso de la prueba rápida cualitativa de Procalcitonina, con lo que se pretende realizar el diagnóstico precoz para el inicio de tratamiento temprano.

CAPITULO 3

MARCO TEORICO

La sepsis es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, con una incidencia anual de 50 a 100 casos por cada 100, 000 personas en los países industrializados. En los EE.UU. hay aproximadamente 750 000 nuevos casos de sepsis grave anualmente, con un impacto económico que se acerca a los 17 mil millones de dólares.

A pesar de una enorme inversión en recursos de cuidados intensivos, un 20-50% de los pacientes con sepsis mueren, ya que es la tercera causa de muerte infecciosa y la décima causa de muerte en general.

La incidencia de la sepsis grave está aumentando en aproximadamente 9% anual. Entre los años de 1979 y 2000, la incidencia aumentó de 82.7/100, 000 a 240.4/100, 000. (1)

La sepsis neonatal sigue siendo una de las principales causas de admisión hospitalaria, afecta al período neonatal, con un estimado de 12 a 40,5 por cada 1000 nacidos vivos. La tasa de mortalidad varía según los países, que va del 7% al 26% de los niños afectados. (2)

Se denomina sepsis al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica con sospecha o etiología bacteriana comprobada. La función inmune normal actúa principalmente eliminando patógenos invasores, dependiente de una apropiada respuesta mediadora, que frecuentemente previene la progresión hacia la sepsis.(3)Resultados de estudios apoyan el hecho de que, la sepsis severa surge de la incapacidad del control del crecimiento bacteriano así como de una devastadora respuesta inflamatoria que posteriormente podría causar falla orgánica.(4).

El término clínico de sepsis se caracteriza por un ataque marcado de citocinas pro-inflamatorias que se han precipitado por una infección. (5) Los signos clínicos iniciales son inespecíficos y los criterios de laboratorio tampoco son totalmente fiables. Las señales de advertencia y los síntomas son a menudo sutiles y pueden fácilmente confundirse con causas no infecciosas como apnea, hipotermia, y la exacerbación aguda de enfermedades crónicas. (6)

Sintomáticamente, esta enfermedad a menudo se manifiesta por dos o más de los siguientes: fiebre o hipotermia, taquipnea, taquicardia, leucocitosis o leucopenia. No es raro que la sepsis conduzca a una o más complicaciones graves, como hipotensión, insuficiencia cardíaca, estado de coma, insuficiencia

renal, coagulación intravascular. A este fenómeno se denomina disfunción orgánica múltiple (Fry, 2000, Jean- Baptiste, 2007). Al igual que en la sepsis, en la disfunción orgánica múltiple la muerte también puede ocurrir. Los linfocitos y sus subconjuntos (células T, células B y células asesinas naturales, así como los monocitos) son una parte básica del sistema inmune, y estas células, junto con los neutrófilos, juegan un papel importante en la defensa del huésped contra la infección cuando tiene un funcionamiento adecuado. (Majlessi et al, 2008;Zucchini et al., 2008; Ermert et al, 2009).

Estas células, así como muchas otras, secretan citocinas, que actúan como una señal de péptidos permitiendo a diferentes células y tejidos comunicarse entre sí e interactuar unos con otros. En la sepsis, una expansión del número de citocinas se ha encontrado que participan en la fisiopatología de la enfermedad (Bozza et al., 2007).

Por ejemplo, TNF-alfa es una parte intrínseca del proceso pro-inflamatorio, influye en las células inmunes y puede causar la muerte celular. IL-1b, entre otros efectos, provoca fiebre, permite a los leucocitos cruzar el endotelio capilar y aumenta la sensibilidad al dolor, es citotóxico para distintos tipos de células y activa la cascada de caspasas de la apoptosis. IL-6 es una citocina multifuncional que es en gran parte causante de la respuesta de fase aguda a consecuencia de una lesión e infección. (5)

La sepsis bacteriana es la principal causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes críticamente enfermos. (4) El diagnóstico precoz de una infección y administración temprana de un antibiótico puede reducir drásticamente la morbilidad y mortalidad. (7)

En teoría, los sistemas automatizados de vigilancia continua, permiten detectar el crecimiento bacteriano unas pocas horas después de que la muestra de sangre se ha tomado. Sin embargo, en la práctica clínica cotidiana, se requiere de 12 a 24 horas para obtener el resultado de la tinción de Gram, una vez que las bacterias han sido recuperadas de cultivos de sangre. (8)

La PCT y su aumento en la sangre de pacientes con procesos bacterianos fue descrita por primera vez por Assicot et al. en 1993. (9)

Procalcitonina es precursor de la hormona calcitonina (CT) (Roos et al, 1974; Jullienne et al, 1980). La calcitonina que se encuentra en las células C tiroideas y las células endocrinas pulmonares, tiene un papel metabólico en la homeostasis del calcio (Hirsch et al, 1963.; Zaidi et al., 1992).(5)

La Procalcitonina es un péptido de 116 aminoácidos con peso molecular de 14,5 kDa y pertenece a la superfamilia de péptidos de la calcitonina (CT). Puede ser

dividido en 3 secciones incluyendo la región amino terminal de procalcitonina, calcitonina inmadura y péptido-1 carboxilo-terminal de la calcitonina (CCP-1, también llamado Catabalca). Procalcitonina es codificada por el gen CALC-1 localizado en el cromosoma 11.

La división de un sitio de transcripción primaria del gen CALC-1 produce Pre-procalcitonina, la cual sufre degradación proteolítica de su secuencia de señales para producir Procalcitonina. Los otros miembros de la superfamilia de los péptidos Calcitonina incluyen el péptido relacionado con el gen de calcitonina I, II (CGRP-I, CGRP-II), la amilina, y adrenomedulína. El gen de la calcitonina está relacionado con un péptido que también codifica al gen CALC-1 y es generado por empalme alternativo de la transcripción primaria de CALC-1 RNAm. El péptido de calcitonina relacionado con el gen II, la amilina, y adrenomedulína se codifican por otros genes.

La expresión de Procalcitonina se produce de una manera específica en tejido. En ausencia de infección, la transcripción del gen CALC-1 para la Procalcitonina en tejido no neuroendocrino se suprime, excepto en las células C de la glándula tiroides que produce la expresión de Procalcitonina, el precursor de la Calcitonina en individuos sanos y no infectados. La síntesis de Procalcitonina se somete a un proceso postraducción para producir pequeños péptidos y Calcitonina madura, que se genera como consecuencia de la supresión de la glicina C-terminal de la Calcitonina inmadura por peptidilglicina un aminoácido - monooxigenasa (PAM).

La Calcitonina madura se almacena en los gránulos secretores y se secreta en la sangre para regular la concentración de calcio. En presencia de infección por microorganismos, los tejidos no neuroendocrinos también expresan un gen CALC-1 para producir Procalcitonina. La infección microbiana induce un aumento sustancial de la expresión CALC-1 en todos los genes del parénquima de tejidos y tipos diferenciados de células en el cuerpo produciendo Procalcitonina. (10) Figura 1.

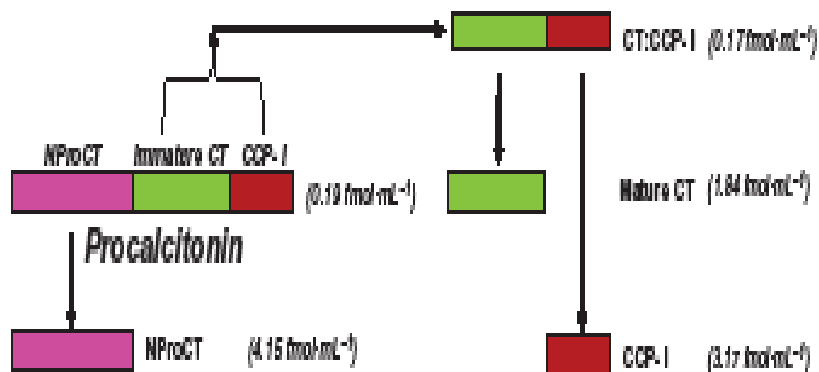


Figure 1 Procalcitonin and its constituent peptides in normal serum, all of which are found at the indicated low concentrations in the blood of normal humans (Snider et al., 1997).

En la sepsis, la infección y la inflamación sistémica grave, los niveles séricos de Procalcitonina suelen aumentar considerablemente, alcanzando los valores de decenas, cientos, a miles de veces de los niveles normales (Assicot et al, 1993. Whang et al, 1998, Müller et al, 2000). (5)

Normalmente los niveles de Procalcitonina en plasma es menor de 0.1 mcg/L(ng/ml) en sujetos sanos. Se encuentran niveles sustancialmente elevados en respuesta a factores desencadenantes durante la infección bacteriana sistémica, particularmente endotoxinas y citocinas inflamatorias. La vida media de eliminación es de 22 a 35 horas. La Procalcitonina comienza su aumento a las 4 hrs con valores máximos a las 8 y 24 hrs al contrario de la PCR la cual se eleva lentamente con un valor máximo a las 36 hrs después de los cambios en las endotoxinas.(11)

Normalmente la PCT es intracelular y únicamente una pequeña cantidad de la prohormona es liberada en el torrente sanguíneo. La PCT no es producida únicamente por las células C del tiroides. Pacientes que han sido objeto de tiroidectomía pueden producir todavía niveles altos de PCT durante un episodio de infección grave, en contraste con la corta vida media de calcitonina, la cual es menor de 1 hora en comparación con la vida media de PCT que es de 25-30 horas en sangre. La Procalcitonina intacta es producida normalmente, pero no es secretada por las células C de la glándula tiroides. Los pacientes con inflamación sistémica causada por infección bacteriana y sepsis secreta PCT en la sangre después de 2 a 3 horas del inicio de la infección.

PCT y otros precursores de calcitonina son detectables en varias condiciones predominando en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica como en

pancreatitis, quemados, politraumatizados y la más importante, infección bacteriana. La concentración de PCT refleja la severidad de infección bacteriana y puede ser usado como un marcador de ayuda para el diagnóstico y monitorización sistémica terapéutica en sepsis y choque séptico de origen bacteriano. (12)

La Procalcitonina (PCT) ha demostrado ser clínicamente más útil y superior al uso general de las variables clínicas y otras pruebas de laboratorio en el diagnóstico de sepsis y que se correlacionan con la extensión y severidad de la invasión microbiana. La PCT muestra un aumento más temprano tras la infección y una disminución más rápida cuando la infección está controlada por el sistema inmune con el apoyo de la terapia con antibióticos. PCT se correlaciona con el alcance y la gravedad de la infección y tiene implicaciones pronósticas, ya que el curso de PCT predice el riesgo de mortalidad en pacientes críticamente enfermos. A medida que aumenta la infección bacteriana, aumenta el nivel de PCT y disminuye después de su recuperación, éste puede ser utilizado en pacientes como biomarcador para guía de tratamiento antibiótico. (13)

La Procalcitonina se puede medir a partir de muestras de plasma con kits disponibles en el comercio con ensayo inmunoluminimétrico como LUMItest PCT (Brahms, Berlín, Alemania) y el PCT Kryptor (Brahms, Hennigsdorf, Alemania). La utilización de PCT ha sido aprobado por La FDA en relación con otros hallazgos de laboratorio y evaluación clínica, para ayudar en la evaluación del riesgo del estado crítico de los pacientes en su primer día de ingreso en la UCI, para la progresión a sepsis grave y shock séptico.(14)

Ensayos como el BRAHMS PCT-Q (B·R·A·H·M·S Aktiengesellschaft, Hennigsdorf, Alemania), es una prueba inmunocromatográfica para la detección semicuantitativa de PCT y es también fácil de usar en condiciones de emergencia.

La Procalcitonina se ha propuesto como un marcador de diagnóstico para ser incluido en la definición internacional de sepsis. (15)

Varios estudios han informado la utilidad de la medición cuantitativa de PCT para el diagnóstico precoz de sepsis en recién nacidos, infección viral, con colonización bacteriana o sufrimiento debido a otras causas, encontrando niveles normales o sólo ligeramente elevados de PCT. (16)

El método B.R.A.H.M.S PCT- Q Diagnóstica (GmbH, Hennigsdorf, Germany), utiliza anticuerpos monoclonales conjugados anti-catacalcina de ratón, anticuerpos conjugados con oro coloidal como trazador y anticuerpos policlonales anti-calcitonina de corderos (fase sólida). El procedimiento se lleva

a cabo con 200 μ L de suero. El trazador se une a la PCT para formar un complejo antígeno–anticuerpo marcado. Este complejo se mueve a través de capilaridad en los sistemas de prueba, y en el proceso, pasa a través del área que contiene la banda de prueba. Este se une a los anticuerpos anti-calcitonina fijos para formar un complejo Sándwich . Figura 2.



Figura 2.- Prueba rápida de Procalcitonina.

En una concentración de PCT de ≥ 0.5 ng /mL, el complejo sándwich es visible como una banda de color rojiza. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración del PCT (4). Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, el color puede estar relacionado con distintos rangos de concentración del PCT. Los rangos tomados para su interpretación son: < 0.5 ng/ml se traducirá sin infección sistémica, > 0.5- 2 ng/ml con sospecha de sepsis, > 2-10 ng/ml se considera infección bacteriana severa y finalmente > 10 ng/ml su interpretación es hacia una infección severa con inflamación sistémica. Este método ha demostrado tener más sensibilidad que la PCR para el diagnóstico temprano de sepsis neonatal, de tal manera que una PCT negativa ayudaría a descartar el diagnóstico de sepsis. (17)

CAPITULO 4

Objetivo general:

Conocer la utilidad de la prueba rápida de Procalcitonina para el diagnóstico de sepsis neonatal.

Objetivos específicos:

- 1.- Establecer la asociación para diagnosticar o excluir sepsis en neonatos mediante un prueba rápida de Procalcitonina.
- 2.- Establecer la asociación entre el resultado de la prueba rápida de Procalcitonina con el desarrollo de sepsis neonatal corroborada por identificación microbiológica.
- 3.-Establecer la asociación entre el resultado de la prueba rápida de Procalcitonina con el desarrollo de sepsis neonatal apoyada con resultados de paraclínicos.
- 4.-Establecer la asociación entre los neonatos con prueba rápida de Procalcitonina positiva y su evolución clínica.

HIPOTESIS

La utilidad de la prueba rápida de Procalcitonina es similar al hemocultivo para el diagnóstico de sepsis neonatal.

CAPITULO 4

JUSTIFICACION

Millones de pacientes en el mundo cada vez más están expuestos al desarrollo de sepsis y la tasa de mortalidad sigue siendo elevada.

En el proceso diagnóstico de la sepsis neonatal los signos clínicos suelen ser inespecíficos y a menudo, se manifiestan sin confirmación con hemocultivo. En el caso de la sepsis, la prueba de referencia es el hemocultivo, pero en la sepsis neonatal no es el mejor patrón de referencia, pues la escasa muestra de sangre, la presencia de bacteriemias intermitentes o el uso de antibióticos maternos hace que, en ocasiones, el número de casos con alta sospecha de sepsis, pero cultivos negativos, sea el doble que el de casos probados.

En la práctica clínica, el tratamiento diagnóstico-terapéutico de la infección bacteriana neonatal es complejo y está lleno de incertidumbres: la inespecificidad de la clínica aunada al resultado diferido en el tiempo de los estudios microbiológicos, hacen que deban ser usadas pruebas de laboratorio que permitan iniciar de forma precoz el tratamiento antibiótico. El propósito de este estudio es realizar una prueba rápida de Procalcitonina para el diagnóstico precoz de los recién nacidos con alta sospecha de sepsis, para el inicio temprano de antibióticoterapia y evitar que estos pacientes sean tratados con antibióticos de forma innecesaria.

CAPITULO 5

DISEÑO METODOLOGICO

DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de estudio: Prueba diagnóstica.

Tipo de diseño: Transversal, descriptiva

Recolección de datos: Prolectivo.

METODOLOGIA

Universo de estudio: Todos los neonatos con sospecha de sepsis, durante el periodo de junio del 2010 a junio del 2011.

Muestra: Todos los neonatos que nazcan en el Instituto Nacional de Perinatología, con sospecha de sepsis y que cumplan con los criterios de inclusión.

LUGAR Y DURACION

El estudio se llevo a cabo en la Unidad de Cuidados Intensivos e Intermedios Neonatales, en la unidad toco quirúrgica del Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinoza de los Reyes, mediante la toma de una muestra de sangre de 500 microlítrros en todos los niños con sospecha de sepsis en el periodo comprendido de junio del 2010 a junio del 2011.

CAPITULO 5

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Inclusión:

- a) Todos los recién nacidos con sospecha de sepsis y que no hubieran hincado tratamiento con antibióticos.
- b) Haberse realizado prueba rápida de Procalcitonina durante la valoración inicial del paciente.
- c) Aceptación del consentimiento informado.

Exclusión:

- a) Recién nacidos con sospecha de sepsis que hayan recibido tratamiento por más de 48 hrs.
- b) Todos los recién nacidos con trauma obstétrico.
- c) Todos los recién nacidos en quienes se detecte proceso infeccioso diferente a sepsis.

Eliminación:

- a) Pacientes en los que no se haya realizado la prueba de Procalcitonina.
- b) Pacientes en los que no se haya tomado hemocultivo.
- c) Pacientes cuyos padres no deseen se les realice la prueba.

CAPITULO 5

DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

Se realizo un estudio de prueba diagnóstica, previa firma de consentimiento informado, se tomo una muestra de sangre de 500 microlítrros a todos los pacientes con sospecha de sepsis que tenían criterios de inclusión, se consideraron dos grupos: el grupo de sepsis neonatal y el grupo de niños sin sepsis. La muestra de sangre tomada se centrifugo y se tomaron 200 microlítrros de plasma. Esta prueba utiliza anticuerpos monoclonales conjugados anti-catacalcina de ratón, anticuerpos conjugados con oro coloidal como trazador y anticuerpos policlonales anti-calcitonina de cordero. El trazador se une a la PCT para formar un complejo antígeno-anticuerpo marcado. Este complejo se mueve a través de capilaridad en los sistemas de prueba, y en el proceso, pasa a través del área que contiene la banda de prueba formando complejo sándwich que es visible como una banda de color rojiza. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración del PCT. Los resultados fueron valorados de acuerdo a la escala incluida en las tarjetas del kit. Una vez obtenido el resultado se da el reporte a la brevedad con la finalidad de valorar el inicio o no de antibióticos. Posteriormente de se revisan expedientes clínicos de estos pacientes utilizando el instrumento, con la finalidad obtener toda la información necesaria para nuestro estudio.

CAPITULO 5

ANALISIS ESTADISTICO

Se realizo estadística descriptiva para conocer las variables poblacionales, para las variables cualitativas se utilizaron proporciones, para variables continuas promedios, desviación estándar y la prueba fue evaluada a través de la estimación de sensibilidad y especificidad, los valores predictivos positivos y valores predictivos negativos, la exactitud de la prueba utilizando tablas de 2x2 con intervalo de confianza al 95%.

CAPITULO 6

RESULTADOS PRELIMINARES

Hasta el momento se han valorado 71 pacientes los cuales cumplían con los criterios de inclusión. De todos los pacientes 36 (50.7%) son femeninos y 35(49.2%) masculinos. De estos pacientes se realizaron 2 grupos, uno con sepsis donde se incluyeron 41 pacientes (57.7%) y otro sin sepsis en el que se incluyeron 30 pacientes (42.2%).

De los niños con sepsis todos nacieron por cesárea, 10 (24.9%) de ellos la madre curso con ruptura prematura de membranas, que dio la pauta para la resolución del embarazo en etapa temprana de la gestación.

De los factores de riesgo para el desarrollo de infección, los más importantes fueron las infecciones de transmisión sexual con 19 (46.3%) casos, seguido por preclampsia, tanto moderada como severa, representado por 10 casos (24.9%). De estos pacientes con sepsis 34 (82.9%) utilizaron catéter venoso central con un promedio de duración total de 19 días. Siete (17%) de ellos solo utilizo venoclisis. El uso de ventilación mecánica en los niños sépticos fue en total de 22 (53.6%) pacientes con un promedio de 7 días.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes que apoyaron los criterios de sepsis fueron leucocitosis (56%), leucopenia (34.1%), taquicardia (82.9%), taquipnea (85.3%), fiebre (39%), hipotermia (29.2%). Se agregan otras manifestaciones clínicas como distensión abdominal 46.3%, acidosis metabólica 19.5%, vomito 17%, piel marmórea 14.6%, hipotensión 9.7%, crisis convulsivas 4.8%. El tratamiento con antibióticos fue empleado en todos los casos de los cuales a 21 se les administro ampicilina/amikacina con un promedio de 6.1 días. Cefotaxima/vancomicina fue administrado en 21 casos con un promedio de 9.3 días de uso.

De los cultivos tomados en pacientes con sepsis, se obtuvo crecimiento bacteriológico en 10 de ellos, con 8 hemocultivos positivos de los cuales el agente principal aislado fue *Staphilococcus epidermidis* en 3 casos, seguido de *Escherichia coli* BLES en 2 casos, un caso con *S.bovis* y *H. influenzae* respectivamente. Se identificaron 2 urocultivos positivos, que además de este

criterio tuvieron manifestaciones clínicas sistémicas aislándose *E.coli* en un caso y *E. faecium* en el otro.

De los 41 pacientes con sepsis se realizó prueba rápida semicuantitativa de Procalcitonina, de los cuales de acuerdo a la escala de medición 23 fueron >0.5 ng/ml, 10 >2 ng/ml y 8 >10 ng/ml.

Cabe mencionar que del grupo de pacientes con sepsis todos presentaron síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y todos tuvieron valores de Procalcitonina positiva (mayor 0.5 ng/ml). De estos, solamente se aisló el microorganismo causal en 10 casos.

Se documentaron 2 defunciones del grupo de pacientes con sepsis, con aislamiento microbiológico (*E. faecium* y *H. influenzae* respectivamente) y con valor de Procalcitonina mayor de 10 ng/ml.

El grupo de pacientes sin sepsis estuvo representado por 30 casos, los cuales tuvieron factores de riesgo para infección semejante al grupo de sepsis, sin embargo en algunos casos las madres cursaron con cardiopatía, nefropatía, diabetes materna o bien son pacientes prematuros que requirieron aplicación de surfactante. De este grupo de pacientes ninguno tuvo datos de respuesta inflamatoria sistémica, ni cultivos positivos, sin embargo, los resultados de procalcitonina fueron: <0.5 ng/ml = 17 casos, >0.5 ng/ml = 5 casos, >2 ng/ml = 3 casos y >10 ng/ml = 6 casos. Los casos de Falsos Positivos de la Pct se describen en algunas situaciones neonatales como hipoxemia, asfixia, preeclampsia, diabetes materna y la administración de agente tensoactivo intratraqueal; se sabe que la especificidad en las primeras 24 h desciende debido a que los precursores de la calcitonina aumentan de forma transitoria

6,7,12,16.

Cabe mencionar que se encontró el mayor porcentaje de pruebas negativas en este grupo del 56.6%. Los que requirieron vigilancia en el 16.6% y los falsos positivos en el 10% y 20% respectivamente con los factores de riesgo ya comentados.

DISCUSION

En las fases de proceso diagnóstico intervienen la historia clínica, la exploración física y la realización de pruebas complementarias (bien en paralelo o en serie). Es evidente que una buena prueba diagnóstica es la que ofrece resultados positivos en enfermos y negativos en sanos, y cuyas condiciones exigidas son: validez, seguridad, reproductividad, sencillez, mínimos efectos adversos y ser

económicamente soportable (o una buena relación costo- beneficio en relación con otras pruebas conocidas).

En el proceso diagnóstico de la sepsis neonatal los signos clínicos suelen ser inespecíficos y, a menudo, se manifiestan sin constancia de un hemocultivo positivo. Esto es especialmente importante en la probable sepsis neonatal precoz con factores de riesgo perinatales de infección, en las que la aplicación de antibióticos a la madre es una práctica común. De ahí el interés de disponer de pruebas de diagnóstico rápido en el período neonatal precoz (como la Procalcitonina), que diferencien entre recién nacidos infectados y no infectados.

En este estudio se realizó un constructo en función de datos clínico-analítico-microbiológicos, en el que una vez instalados los datos de respuesta inflamatoria sistémica, la prueba de Procalcitonina positiva y los resultados de paraclínicos (de acuerdo a los criterios de sepsis), se clasificó como sepsis temprana o tardía y se inició tratamiento antibiótico. Posteriormente la sepsis es corroborada con el aislamiento microbiológico aun que solamente se logró en 10 casos de los pacientes sépticos.

Sin embargo hasta este momento podemos decir que la prueba rápida semicuantitativa sérica de Procalcitonina es una herramienta adecuada que nos ha permitido valorar de forma integral a los pacientes y que hemos podido valorar el uso o no antibióticos de forma temprana.

En estos momentos estamos en fase de toma de las muestras sanguíneas y recolección de datos de los expedientes clínicos con el objetivo de obtener una muestra significativa.

CAPITULO VII

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. - Tsalik E, Woods C. Sepsis **redefined: the search for surrogate markers**. *International Journal of Antimicrobial Agents*.2009; 34, 16–20.
- 2.- Guo X, Han S, Liu J, Qiu Y, Sun Q et al. **The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: A meta-analysis**. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2010; 42, 723–733.
3. - Dahaba A, Metzler H. **Procalcitonin's role in the sepsis cascade. Is procalcitonin a sepsis marker or mediator?** *Minerva Anesthesiol*. 2009; 75, 447-52.
- 4.-Aho S, Barbar S, Blettery B, Charles P, Doise J, Emmanuel P, et al. **Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and outcome**. *Critical Care* 2009; 13, 1-11.
5. - Becker K, Nylen E, Snider R. **Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target**. *British Journal of Pharmacology*. 2010;159, 253–264
- 6.- Akbay Y, Aksit A, Colak E, Colak O, Ucar B. **Serum Amyloid A, Procalcitonin, Tumor Necrosis Factor- α , and Interleukin-1 β Levels in Neonatal Late-Onset Sepsis**. *Mediators of Inflammation*. 2008; 737141,1- 7
7. - Bady P, Genne D, Genne L, Indino P, Lemarchand P. **Prospective study on procalcitonin and other systemic infection markers in patients with leukocytosis**. *International Journal of Infectious Diseases*. 2008;12, 319—324
8. - Aho S, Blettery B, Charles P, Doise J, Ladoire S et al. **Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either gram negative or gram positive bacteria**. *BMC Infectious Diseases* 2008;38,1-8.
- 9.- Alaponta V, Alcántara I, López-Prats J, Micoa S, Reinab P. **Exactitud del test de procalcitonina en el diagnostico de bacteriemia oculta en pediatría: revisión sistemática y metanálisis**. *An Pediatr* .2010; 10, 1-10

10. - Jin M, Khan A. Procalcitonin: **Uses in the Clinical Laboratory for the Diagnosis of Sepsis**. LABMEDICINE. 2010; 41, 173-177
11. - Seppelt I, Shehabi Y. **Is procalcitonin useful for guiding antibiotic decision making in critically ill patients?**. Critical Care, 2008; 12: 1-5
12. - Kobatake S, Matsuda S, Matsuura S, Nakamura K, Sotomura S, Ushio Y, et al. **Determination of procalcitonin concentration using the Sphere Light 180 clinical auto-analyzer**. Clinica Chimica Acta. 2008; 388, 38-40
13. - Christ-Crain M, Müllera B, Schuetza P. **Procalcitonin and other biomarkers to improve assessment and antibiotic stewardship in infections – hope for hype?**. SWISS MED WKLY. 2009; 139; 318 – 326
- 14.- *Blakemore* A, *Chase* J, *Hann* C, *Leec* D, *Lina* J, et al. **Development of a model-based clinical sepsis biomarker for critically ill patients**. Methods Programs Biomed. 2010. (14)
15. - Kim K, Han J. **Evaluation of the Clinical Performance of an Automated Procalcitonin Assay for the Quantitative Detection of Bloodstream Infection**. Korean J Lab Med. 2010; 30: 153-9
16. - Boo Y, Nor A, Rohana J. **Usefulness of a semi-quantitative procalcitonin test kit for early diagnosis of neonatal sepsis**. Singapore Med J. 2008;49, 204-208
- 17.- Liu Y, Liu Z, Meng F, Su L, Tang Y, Wen Q. **Serum procalcitonin at the time of admission to the UCI as a predictor of short-term mortality**. Clinical Biochemistry. 2009; 42, 1025-1031.

RESULTADOS DE PRUEBA RAPIDA SEMICUANTITATIVA DE PROCALCITONINA

