



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**ÁREA DE INMUNOLOGÍA DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
CLÍNICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUEBLA**

TESIS

**“RELACIÓN ENTRE PROTEÍNA C REACTIVA Y PROCALCITONINA EN
PACIENTES NEONATOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUEBLA
CON SOSPECHA DE SEPSIS BACTERIANA”**

QUE PARA OBTENER DE TÍTULO DE:

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

DALIA ANGÉLICA CASTILLO DURÁN

DIRECTORA DE TESIS:

M.C. MARÍA SUSANA PÉREZ FERNÁNDEZ

ASESORA: QFB LUCELVI CRUZ PÉREZ

PUEBLA, PUEBLA

NOVIEMBRE 2020



Puebla, Pue. a 3 de Diciembre de 2019

**C. CASTILLO DURÁN DALIA ANGELICA
P R E S E N T E**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Area de Microbiología,

MC. MARIA SUSANA PEREZ FERNANDEZ, Director de Tesis,

QFB. LUCELVI CRUZ PÉREZ, Asesor,

se le comunica la autorización de su anteproyecto de tesis denominado:

**"RELACIÓN ENTRE PROTEÍNA C REACTIVA Y PROCALCITONINA EN
PACIENTES NEONATOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUEBLA CON
SOSPECHA DE SEPSIS BACTERIANA"**

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad,
para los fines legales a los que haya lugar

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

DR. JORGE RAÚL CERNA CÓRTEZ

DIRECTOR





BUAP

OFICIO C.Q./CT 005CR/2020

M.C. GLORIA LEÓN TELLO

M.C.T.E. HILDA ALICIA CARRASCO PERAL

D.E.D. EDITH DÍAZ CABRERA

Con toda atención comunico a ustedes que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora de Tesis que presenta el (la) pasante de la Carrera de QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

DALIA ANGÉLICA CASTILLO DURÁN

cuyo título es:

"Relación entre Proteína C reactiva y procalcitonina en pacientes neonatos del Hospital Universitario de Puebla, con sospecha de sepsis bacteriana"

realizada en el área de Microbiología.

Asimismo, les solicitamos que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 11 de febrero de 2020

Dr. Jorge R. Cerna Cortez

Director Facultad de Ciencias Químicas





OFICIO C.Q./CT 023J/2020

Mtra. María Elena Ruíz Velasco
Directora de Administración Escolar
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

En relación al oficio de fecha 3 de Noviembre de 2020, firmado por el Coordinador del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, me permito comunicar a Usted el nombre de los catedráticos que integran el Jurado de Examen Profesional de la Carrera de Químico Farmacobiólogo, quien con número de matrícula **201318504**, sustentará:

DALIA ANGÉLICA CASTILLO DURÁN

JURADO


M.C. GLORIA LEÓN TELLO, *Presidente*
M.C.T.E. HILDA ALICIA CARRASCO PERAL, *Secretario*
D.E.D. EDITH DÍAZ CABRERA, *Vocal*

Examen que se realizará el día 25 de Noviembre de 2020, a las 12:00 horas en **sesión en línea**, a través de la Plataforma Zoom. Esperando una respuesta favorable al presente, le reitero mi atenta y distinguida consideración.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., 9 de noviembre de 2020.


Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital:

m9FmMWg{JLE_ZpQ}#&/B57@@n6uP/kXMDRL;7V6mJzXwQRf[MSzQCxFSrgkbu7FPv,K&[T2_VW_[3zCUx]P;f:9gzd2Mad
bC5U+)b#J;6q/*p8{+arG_5#7&i*p(@7dt+Bn5J.5]R7Hy:%-pHj#ZkR)3;MLD}3et[BN*TAhdUp=gB[Vx.K}rS_z/-
zA%H}Tz&CMMVnwQ

*Más que ser una mujer
hecha para las mejores cosas
del mundo, vienes preparada para
vencer las peores.*

-Miguel Gane

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico con amor y gratitud a mis padres Angélica Durán Vargas y Efrén Castillo Carpinteyro, por su confianza y apoyo incondicional en mis momentos difíciles.

AGRADECIMIENTOS

El principal agradecimiento a Dios quien me ha guiado y me ha dado fortaleza para seguir adelante.

A mis padres, mis pilares más importantes, sin ustedes no lo hubiera logrado, sin duda alguna este logro es suyo, nada me pertenece, todo se los debo a ustedes.

Mamá, gracias por estar a mi lado en todo momento, y por no permitir que me rindiera jamás.

Papá, gracias por compartirme tus experiencias, conocimientos y consejos.

A mi hermano, que me ha dado las mejores lecciones de vida y perseverancia.

A mi familia entera, especialmente a mis abuelas, por la fuerza y apoyo que me dan, son mi motor.

A mis amigos que me acompañaron a lo largo de mi carrera universitaria y se convirtieron en mi segunda familia.

Citlalli, más que una amiga, eres como la hermana que nunca tuve, gracias por alentarme en cada meta, en cada sueño, gracias porque me cuidaste y estuviste al pendiente de mí cuando enfermé, estaré en deuda contigo.

Karla, hemos compartido tanto juntas, has estado en cada etapa importante de mi vida universitaria, gracias por las veces que me madrugaste para acompañarme a mis sesiones de radioterapia y cuidar de mi todo este tiempo.

Daniel, nos conocimos desde el día uno en la universidad, las clases no hubiesen sido tan amenas sin ti y me alegra haber solidificado nuestra amistad, gracias por estar. Y por ayudarme a llevar con un humor mi enfermedad.

A mi Directora de Tesis la Maestra Susana Pérez Fernández , por darme las herramientas necesarias para forjarme como profesional en el Laboratorio Clínico y por su apoyo en todo este proceso para culminar de manera exitosa esta investigación.

A mi Asesora de Tesis la Química Lucelvi Cruz Pérez, por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad que me permitieron aprender más allá de lo estudiado en este proyecto.

A la Maestra Gloria León Tello, por el apoyo, aportaciones y tiempo compartido en la realización de este proyecto.

A mis sinodales por sus ideas su tiempo y conocimientos compartidos, por darme una luz de pensamientos y enseñanzas.

A los Químicos del Hospital Universitario de Puebla quienes con su conocimiento, valores y entrega lograron cultivarme y formarme como la profesionista que soy ahora.

A todas aquellas personas que estuvieron alentándome para poder culminar esta importante etapa.

ABREVIATURAS

SRIS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
PCT	Procalcitonina
PCR	Proteína C reactiva
CALC-1	Precursor de Calcitonina 1
CT	Calcitonina
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
KDa	KiloDalton
RNA	Ácido ribonucleico
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
IL	Interleucina
ROC (curva)	Característica Operativa del Receptor
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
UCIN	Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales
FC	Fosfocolina
SGB	<i>Streptococo</i> del grupo B
RNPT	Recién Nacido Pre Término
RPM	Rotura Prematura de Membrana
IMO	Insuficiencia Múltiple Orgánica
SNT	Sepsis Neonatal Temprana
C1q	Factor de complemento
C3	Componente 3 del complemento
Fc	Fracción constante
HUP	Hospital Universitario de Puebla
RN	Recién Nacido
Pb	Probable

RESUMEN

El diagnóstico de sepsis de tipo bacteriana en pacientes neonatos, aún continúa siendo un reto y tema de debate entre médicos puesto que las pruebas convencionales como lo es el hemocultivo, tarda varios días en emitir un resultado por parte del laboratorio clínico. Por ello se ha planteado que las pruebas de proteína C reactiva de alta sensibilidad y la procalcitonina en conjunto son marcadores altamente sensibles y específicos en el diagnóstico de sepsis bacteriana en el Hospital Universitario de Puebla, tomando en cuenta lo anterior, y con el objetivo de determinar la relación entre ambos metabolitos, lo que se pretende observar en este estudio es si el aumento de ambos parámetros influye en el criterio médico para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con sospecha de sepsis.

Métodos: Se revisaron 83 expedientes de pacientes neonatos con sospecha de sepsis bacteriana del servicio de UCIN cuyos estudios realizados fueron: Procalcitonina y Proteína C reactiva.

Resultados: Se obtuvieron 21 expedientes de pacientes neonatos, en los que ambos biomarcadores tuvieron resultados elevados, se determina que el coeficiente de correlación entre ellos es igual a 0.27 lo que indica que existe una asociación lineal positiva pero es muy débil.

Conclusión: Se determina que no existe una relación significativa entre la Proteína C Reactiva de alta sensibilidad y la Procalcitonina en el diagnóstico de sepsis bacteriana.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	2
Procalcitonina	2
Síntesis y secreción de procalcitonina	3
Inflamación	3
Niveles séricos de procalcitonina	4
Proteína C Reactiva (PCR)	5
Síntesis y secreción de PCR	6
Ligandos de la Proteína C Reactiva	6
Niveles séricos de la Proteína C Reactiva	7
Sepsis neonatal	8
Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)	11
MARCO DE REFERENCIA	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVOS	17
Objetivo General	17
Objetivos específicos	17
HIPOTESIS	18
DISEÑO DEL ESTUDIO	19
MATERIALES Y METODOLOGÍA	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	33
CONCLUSIONES	36
PROPUESTAS	37
BIBLIOGRAFÍA	38

Índice de Figuras y Tablas	Página
Tabla No. 1.- Factores favorecedores del desarrollo de sepsis en el neonato.	10
Tabla No. 2.- Tabla de resultados de pacientes neonatos a los que se les realizó determinación de PCT y PCR de alta sensibilidad.	27
Tabla No. 3.- Tabla de resultados de pacientes neonatos clasificados de acuerdo a los valores de referencia de PCT establecidos por el laboratorio de Análisis Clínicos del HUP y la incidencia de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad elevada.	27
Gráfica No. 1.- Distribución de pacientes neonatos de ambos sexos a los que se les realizó determinación de PCT y PCR.	28
Gráfica No. 2.- Distribución de pacientes neonatos con probable sepsis temprana o tardía.	28
Gráfica No. 3.- Distribución total de la frecuencia de edades en días de la población de estudio a los que se les realizaron ambas pruebas.	29
Gráfica No. 4.- Distribución de pacientes neonatos a los que les refirieron estudios de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad de acuerdo a su rango de edad y sexo.	29
Gráfica No. 5.- Distribución total de la frecuencia de valores de PCT y frecuencia en la que la Proteína C Reactiva de alta	30

sensibilidad se eleva de acuerdo a los rangos establecidos en el laboratorio de Análisis Clínicos del HUP.

Grafica No 6.- Distribución de los valores de PCT relacionado con los valores de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, de los 83 expedientes revisados. 30

TABLA No 4.- Tabla de resultados de pacientes neonatos a los que se les realizó determinación de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, en los cuales ambos biomarcadores están elevados de acuerdo a los valores de referencia establecidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP. 31

Gráfico No. 7.- Distribución de los datos recabados de valores de PCT relacionado con los valores de PCR, en los cuales ambos biomarcadores se encuentran elevados. 32

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de sepsis en neonatos, aún continúa siendo un reto y tema de debate entre médicos. Ya que en pacientes con infecciones graves y alteración de uno o más órganos o sistemas, comúnmente se les realiza un cultivo, que en la mayoría de los casos es difícil aislar algún microorganismo a tiempo y en ocasiones es reportado como negativo, sin embargo no debe descartarse la probabilidad de infección, debido a esto es necesario utilizar otros parámetros de diagnóstico clínico.

En 2001 se acuñó el término ‘SRIS’ que se define como el Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, ahí se delimitan bien los términos de sepsis grave y choque séptico, tomando en cuenta estas definiciones, claramente habla de un proceso inflamatorio que puede diagnosticarse de forma más rápida y eficiente como lo es la determinación de Proteína C reactiva, aunque esta prueba es indicativa de un proceso inflamatorio, no es específica, pero sirve para orientar cualquier diagnóstico.

Los síntomas y signos específicos de sepsis pueden no aparecer inicialmente, en cuanto a diagnóstico microbiológico puede tardar varios días en emitirse un resultado. El tiempo en estos casos es crucial ya que de no darse un tratamiento oportuno el riesgo de desarrollar falla multiorgánica es alto, es por ello que es importante generar un criterio clínico para el uso adecuado de marcadores de inflamación con valor diagnóstico, como lo es la procalcitonina, que tiene gran importancia para dar inicio a un plan terapéutico adecuado así como la medición de respuesta al tratamiento.

Se ha planteado que la proteína C reactiva de alta sensibilidad y la procalcitonina en conjunto son marcadores altamente sensibles y específicos en el diagnóstico de sepsis en el Hospital Universitario de Puebla, tomando en cuenta lo anterior, y con el objetivo de determinar la relación entre ambos metabolitos, lo que se pretende observar en este estudio es si el aumento de ambos parámetros influye en el criterio médico para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con sospecha de sepsis.

MARCO TEÓRICO

Procalcitonina

La procalcitonina (PCT) es el precursor de la hormona calcitonina, fundamental para la regulación metabólica del calcio en los seres humanos. Está compuesta por 116 aminoácidos (Jattin F. y col., 2018).

El gen que codifica su transcripción corresponde al *calc-1* ubicado en el cromosoma 11. La producción de esta pro-hormona en los individuos no sometidos a cuadros de inflamación sistémica, ocurre en las células parafoliculares (Células C) de la glándula tiroidea y en el pulmón. Cuando se activan las vías de señalización, se realiza la transcripción de la preprocalcitonina con 141 aminoácidos, el cual posteriormente es clivado por proteólisis a 116 aminoácidos y finalmente a los 32 constituyentes de la calcitonina (Jattin F. y col., 2018).

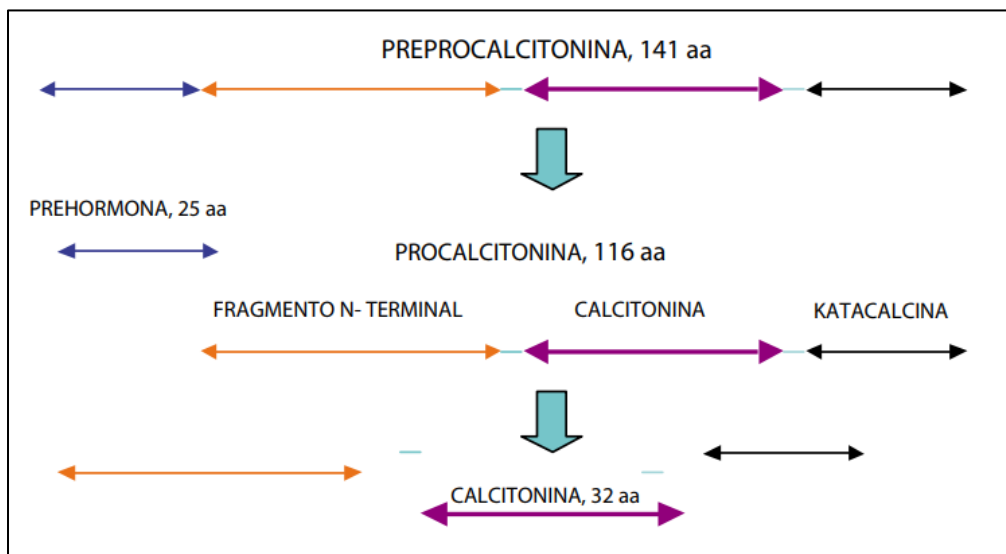


Figura 1. Esquema de representación de cómo se sintetiza la procalcitonina a partir de preprocalcitonina. Recuperado de Procalcitonina (PCT) Su utilidad como biomarcador de la sepsis. Fernández P. (2013)

En condiciones metabólicas normales, la Calcitonina hormonalmente activa se produce y se secreta en las células C de la glándula tiroidea después de una actividad proteolítica intracelular específica. En individuos sanos, la glándula tiroidea no segrega PCT intacta y las concentraciones presentes en la sangre son muy bajas (Meisner M., 2010).

Síntesis y secreción de procalcitonina

La PCT corresponde a un grupo de proteínas relacionadas con el gen de la calcitonina *cgrp* I y II, que son catalogados como precursores de calcitonina; es una proteína de 116 aminoácidos, con peso molecular de 13 kDa. Después de la transcripción del gen CALC-1, el RNA mensajero codifica una proteína de 16 kDa y 141 aminoácidos llamada preprocalcitonina, la cual comprende una secuencia de señalización que al ser separada de la molécula en el retículo endoplásmico da origen a la PCT. La PCT es precursor de tres moléculas distintas: calcitonina (32 aminoácidos), katalcalcina (segmento carboxi-terminal de PCT, 21 aminoácidos), y aminoprocalcitonina (aminoterminal, 57 aminoácidos). Estas moléculas son resultado de un proceso proteolítico intracelular, llevado a cabo por la enzima pro-hormona convertasa en las células C de la tiroides en condiciones metabólicas normales. Además, estas moléculas se encuentran en las células neuroendocrinas de pulmón y páncreas (Balci C., y col., 2002)

Aunque la PCT es la pro hormona de la calcitonina, sus actividades biológicas son claramente diferentes. En las células C de la glándula tiroides y en las células K del pulmón, las concentraciones séricas elevadas de calcio o los cambios neoplásicos dan como resultado la transcripción del gen PCT. Posteriormente, se produce la síntesis ribosomal de la molécula PCT de 116 aminoácidos, y la subsiguiente escisión de los aminoácidos 60 a 91 produce calcitonina (Lee H., 2013).

La cascada de citoquinas inflamatorias liberadas durante una infección sistémica puede determinar la velocidad y la intensidad de la síntesis y liberación de procalcitonina, lo que explica las diferencias observadas en los niveles sanguíneos de procalcitonina (Kim J. y col., 2016)

Inflamación

Las hormocinas pueden exhibir una expresión hormonal clásica o, tras la estimulación inflamatoria, mostrar un comportamiento más parecido al de las citoquinas.(3)

La liberación inflamatoria ubicua puede inducirse directamente a través de toxinas microbianas (p. Ej., endotoxina), o indirectamente a través de una respuesta humoral o mediada por células del hospedador (p. Ej., Interleucina [IL] -1 β , factor de necrosis tumoral [TNF] alfa e IL-6). Las células del parénquima, incluidas las células hepáticas, las células

renales, los adipocitos y las células musculares, proporcionan la mayor masa tisular y la principal fuente de hormocinas circulantes en la sepsis (Christ-Crain M. y col., 2007).

Niveles séricos de procalcitonina

La vida media biológica de la PCT es de 22 a 26 horas, un punto temporal ventajoso en comparación con la PCR y otros reactantes de fase aguda (Gilbert D. N., 2010).

A diferencia de la PCR y otros reactantes de fase aguda, los datos existentes sugieren que los niveles de PCT rara vez aumentan en respuesta a las infecciones virales, lo que indica que la PCT puede ser útil para la discriminación entre infecciones virales y bacterianas. La falta de respuesta viral se postula como resultado de la síntesis estimulada por el virus de interferón alfa por macrófagos, que, a su vez, inhibe la síntesis de TNF (Lee H., 2013).

Se considera que niveles de PCT en suero de hasta 0,5 ng/ml son normales; desde 0,5 hasta 2,0 ng/ml representan una elevación leve; desde 2 hasta 5 ng/ml se interpretan como elevación moderada; entre 5 y 10 ng/ml hay una elevación significativamente alta, mientras que valores superiores a 10 ng/ml se interpretan como cuadros francos de sepsis grave y choque séptico. (10) Un punto de corte de 0,5 ng/ml es reconocido a nivel internacional como el más adecuado, en la medida en que se ha estandarizado en amplias revisiones de la literatura especializada, mediante la determinación en curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) (Coy M. A., 2011).

La procalcitonina puede diferenciar con precisión la sepsis con cultivo negativo de los SIRS no infecciosos y, por lo tanto, contribuir al diagnóstico temprano y al manejo efectivo de estas afecciones (Anand D. y col., 2015).

Los niveles de PCT parecen ser específicos de las infecciones bacterianas sistémicas, por cuanto existe evidencia de que no se libera en cantidades significativas en el caso de infecciones virales, o de aquellas bacterianas de tipo intracelular como *Mycoplasma pneumoniae* (Dahaba A. A. y col., 2009).

A la evaluación de los niveles séricos de PCT también se le ha reconocido valor pronóstico, en la medida que ha sido observado que sus niveles tienden a aumentar significativamente cuando se incrementa la severidad de la sepsis, lo mismo que cuando empeora la falla orgánica. En un estudio adelantado, se encontró que un alto valor máximo de la PCT, con

una lectura superior a 1,0 ng/ml, incrementan significativamente el riesgo relativo de mortalidad a 90 días (Jensen J. U. y col., 2006).

Proteína C Reactiva (PCR)

La proteína C Reactiva forma parte de la subfamilia de pentraxinas cortas y es un integrante característico de las proteínas de “fase aguda”, consiste en una estructura cíclica formada por la unión no covalente de 5 subunidades idénticas distribuidos alrededor de un poro central y con una masa molecular de 118 kDa. En el hombre es una proteína no glicosilada y está codificada en el cromosoma 1. Cada una de las subunidades expone dos caras, una de ellas (caraB) une 2 iones Ca^{++} y tiene un lugar de unión para Fosfocolina (FC); la otra cara (cara A) dispone de lugares de unión para C1q y receptores de Fc, que se encuentran en la superficie de leucocitos (Kaptoge, S. y col., 2010).

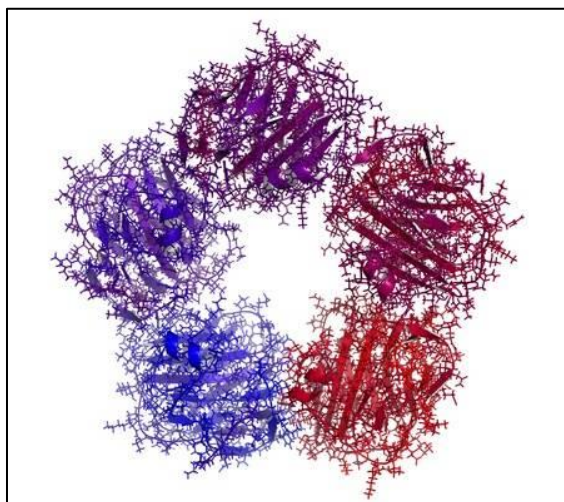


Figura 2. Representación de Estructura química de la proteína C-reactiva (CRP) humana. Recuperado de RCSB PDB Protein Data Bank.

Normalmente se encuentra presente en niveles de trazas en el suero, pero aumenta rápidamente en respuesta a una variedad de condiciones infecciosas o inflamatorias (Urquiza A. G. y col., 2017).

Se usa ampliamente en pruebas clínicas para diagnosticar y tratar a los pacientes con sepsis (Henriquez C. C. y col., 2014).

Síntesis y secreción de la Proteína C Reactiva

La PCR está codificada en el cromosoma 1 y es sintetizada por los hepatocitos, es estimulada por citoquinas en respuesta a infección o inflamación tisular, particularmente IL-1, IL-6 y TNF-alfa (13). Por otra parte, la PCR está sometida a diversos cambios postranscripcionales; la velocidad de secreción (no solo de síntesis) está enormemente acelerada en situaciones de fase aguda: en condiciones fisiológicas, se sintetiza a una velocidad lenta, se forma el pentámero y es retenida en el retículo endoplásmico, pero en situaciones de fase aguda pierde su afinidad por el anclaje citoplasmático y es liberada rápidamente. Las concentraciones plasmáticas de esta proteína pueden aumentar hasta 100 o 1000 veces sus concentraciones normales en respuesta a diversas formas de agresión tisular (Kaptoge S. y col., 2010).

La PCR en suero es un biomarcador comúnmente utilizado para evaluar la respuesta inflamatoria, y los aumentos se asocian con un aumento de la inflamación, infección o sepsis. Por ejemplo, las concentraciones plasmáticas de PCR que superan los 8 mg / dl pueden distinguir la respuesta inflamatoria debida a la infección de otros tipos de inflamación, lo que indica que los niveles de PCR pueden predecir la infección (Jeschke M. G. y col., 2013).

El papel de la PCR durante la inflamación aguda no está del todo claro y puede unirse a los componentes de los fosfolípidos de los microorganismos, facilitando su eliminación por los macrófagos. Debido a que los niveles de PCR aumentan significativamente durante la inflamación aguda, este biomarcador se ha utilizado durante décadas para indicar la presencia de una enfermedad inflamatoria o infecciosa significativa, especialmente en pediatría. Aunque su baja especificidad puede ser su principal inconveniente como biomarcador de la sepsis en adultos, se usa comúnmente para detectar la sepsis de aparición temprana en neonatología (Henriquez C. C. y col., 2014).

Ligandos de la Proteína C Reactiva

El ligando más característico es la fosfocolina, interacción que es característica de la unión de esta proteína a múltiples microorganismos y que juega un importante papel en nuestra defensa frente a los mismos. No obstante, esta interacción no es única, sino que también puede interaccionar con la fosfocolina de células dañadas (Kaptoge S. y col., 2010) (Fig. 3).

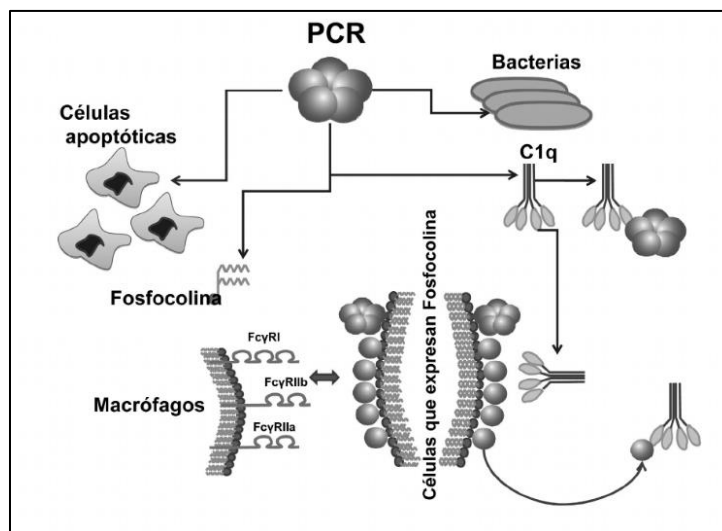


Figura 3. Esquema de representación de afinidad de la fosfocolina con la molécula de PCR.

Niveles séricos de Proteína C reactiva

Cuando un paciente tiene un resultado de proteína C reactiva (PCR) mayor a 10 mg/dL se clasifica como una posible sepsis, asociada a una infección sistémica potencialmente mortal (Zea V. A. y col., 2014).

Fernández López y Cols determinan tras su estudio, que el punto de corte de PCR en más de 27.5 mg/l tiene una sensibilidad del 78% y una especificidad de 75% para detectar infección bacteriana grave, en niños con fiebre y edad comprendida entre 1 y 36 meses (López A. F. y col., 2003). Se conoce la alta especificidad que presenta la Proteína C Reactiva en las infecciones neonatales; sin embargo, la utilidad de la PCR radica en la realización de determinaciones seriadas, ya que sus concentraciones séricas se incrementan a partir de las 12-24 horas de haberse iniciado la infección (Santos A. M. y col., 2016). Los niveles de PCR elevados son ampliamente utilizados en la práctica clínica como un marcador para distinguir entre RN con o sin sepsis. Sin embargo, algunos neonatos con bacteriemia tienen niveles de PCR en rango normal y no se encuentran bien caracterizados, se puede considerar que un valor por arriba de 1 mg/dL es indicativo de sepsis en RN (Labraña Y., 2015).

La PCR ha demostrado tener un alto valor predictivo negativo, por lo que su uso ha sido propuesto en el manejo de sepsis para limitar el tiempo de duración de cobertura antibiótica. Sin embargo, esta prueba varía dependiendo de factores como ruptura

prematura de membranas, uso de esteroides antenatales, y edad gestacional, limitando su uso (Camacho G. A. y col., 2013).

Existe evidencia de que algunas situaciones del entorno perinatal pueden afectar los valores normales de leucocitos, principalmente el valor absoluto de neutrófilos y los niveles de Proteína C Reactiva del neonato. Otros procesos como la hipertensión materna, hipoxia perinatal, hemorragia intraventricular, trabajo de parto mayor de 18 horas y períodos expulsivos prolongados también pueden ocasionar alteraciones (Emmerson A. J., 2011).

Sepsis neonatal

En el recién nacido la sepsis neonatal se divide en dos grupos según la edad de presentación: sepsis neonatal temprana, que ocurre dentro de las primeras 72 horas de vida y es causada por transmisión vertical, y donde *Streptococcus* del grupo B, *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Listeria* son los microorganismos principalmente involucrados. La sepsis neonatal tardía que ocurre luego de las 72 h de vida, se debe principalmente a patógenos adquiridos en el periodo posnatal, principalmente cocos Gram positivos y *Klebsiella*. (Quintero A. O. P., 2014).

Como fisiopatología de sepsis tenemos factores de riesgo maternos entre los que se encuentran: Ingesta peri-parto de alimentos contaminados, historia de cerclaje cervical o amniocentesis, colonización vaginal/bacteriuria por *Streptococo* del Grupo B, signos clínicos y/o paraclínicos de coriamnionitis. Por otro lado también se encuentran los factores de riesgo fetales/neonatales en los que se encuentra parámetros como: prematurez/bajo peso, malformaciones congénitas, parto complicado o instrumentalizado y RNPT intervenidos (vías venosas – intubados) (Quintero A. O. P., 2014).

Los episodios en los que hay signos clínicos de infección y un hemocultivo positivo son catalogados como sepsis confirmada. Aquellos casos en los que no se logra aislar un patógeno, pero existe una sepsis clínica son clasificados de acuerdo a las variables de laboratorio. Si el paciente tiene, al menos, dos resultados de laboratorio alterados se consideran una sepsis probable, lo que indica una alta sospecha de sepsis y que, posiblemente, la falta de aislamiento del germen se debe a la baja sensibilidad del hemocultivo. La sepsis probable y la sepsis posible han sido agrupadas bajo el nombre de “sepsis definida clínicamente” o “sepsis presuntiva”. Sin embargo, consideramos que

mantener ambas definiciones (probable y posible) permite tener una definición final más real, con gradientes de certeza y, por tanto, una mejor vigilancia epidemiológica. Por último entre los factores de riesgo sociales se encuentran: atención prenatal deficiente o tardía, bajo nivel socio-económico de la madre, desnutrición materna, drogadicción materna (Zea V. A. y col., 2014).

El riesgo de desarrollar sepsis se debe en parte a la mayor vulnerabilidad de las barreras naturales y en parte al compromiso del sistema inmune. La transferencia placentaria materna de IgG al feto recién comienza a las 32 semanas de gestación. La IgA secretora está muy disminuida tanto en los pulmones como en el sistema gastrointestinal. Además las barreras físicas naturales son inmaduras, especialmente piel, cordón umbilical, pulmón e intestino. Hay una disminución de la actividad de la vía alterna del complemento (C3). Existe una deficiencia en la opsonización de los gérmenes con cápsula polisacárida. Rápido agotamiento de los depósitos de neutrófilos maduros medulares cuando hay exposición a una infección. Estos neutrófilos tienen menor capacidad de adherencia y fagocitosis y menor capacidad bactericida. La inmunidad mediada por linfocito T helper y linfocito natural killer está alterada y la memoria inmunológica es deficiente. A mayor prematuridad hay más inmadurez inmunológica y mayor frecuencia de infecciones (Tite T. K. M., 2017).

Los microorganismos invaden el torrente sanguíneo por medio de la adquisición transplacentaria de agentes infecciosos durante una bacteriemia materna, o por exposición al líquido contaminado por rotura prematura de membrana. Lo mismo ocurre al contacto con secreciones vaginales contaminadas con gérmenes colonizadores del área genitorrectal materna. Posterior al parto, el recién nacido es colonizado por un gran número patógenos nosocomiales adquiridos vía manos del personal hospitalario o al realizar procedimientos diagnósticos o terapéuticos invasivos (Tabla 1) (Tite T. K. M., 2017).

Tabla 1. Factores favorecedores del desarrollo de sepsis en el neonato. Tomado de: Fernández y col. 2008)

Inmadurez del Sistema Inmune

- Paso transplacentario reducido de IgG materna (pretérmino)
- Inmadurez relativa de todos los mecanismos inmunes (fagocitosis, actividad del complemento, función de Linf. T,...)

Exposición a microorganismos del tracto genital materno

- Infección amniótica por vía ascendente
- Contacto con microorganismos durante el parto
- Parto Prematuro desencadenado por infección (corioamnionitis)

Factores periparto

- Traumatismos de piel, vasos,... durante el parto.
- Cuero cabelludo por electrodos u otros procedimientos

Procedimientos invasivos de UCI

- Intubación endotraqueal prolongada
- Colocación de catéteres intravasculares
- Alimentación intravenosa
- Drenajes pleurales
- Shunts de líquido cefalorraquídeo

Incremento de la exposición postnatal

- Presencia de otros neonatos colonizados
- Hospitalización prolongada
- Escasez de personal sanitario (sobrecarga de trabajo)

Pobres defensas de superficie

- Piel fina, fácilmente erosionable (pretérmino)
- Aparición de microorganismos resistentes
- Infección fúngica.

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)

El concepto de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS, por sus siglas en inglés) se usa para describir la compleja respuesta fisiopatológica a un estímulo como infección, traumatismo, quemaduras, pancreatitis o una variedad de otras lesiones (Balk R. A., 2014).

Respuesta inflamatoria que trae por consecuencia una liberación descontrolada de mediadores, que pueden causar daño hístico, insuficiencia múltiple de órganos (IMO) y que se acompaña de gran mortalidad (30%). A diferencia del síndrome séptico, puede ser causada por una infección u otro tipo de lesión (quemaduras, traumas, pancreatitis, shock).

Puede ser identificado por la presencia de al menos 2 de las siguientes manifestaciones:

- Temperatura corporal mayor que 38 °C o menor que 36 °C.
- Frecuencia cardíaca mayor que 90/min.
- Frecuencia respiratoria mayor que 20/min o PaCO₂ mayor que 32 mmHg.
- Cuenta global de leucocitos mayor que 12,0 x10³/L o menor que 4,0 x10³/L o la presencia de más 0,10 neutrófilos inmaduros. (Ruibal L. A., 2004).

El diagnóstico precoz de SRIS y el grado de certeza del riesgo de sepsis en desarrollo podría cambiar el enfoque del paciente en la práctica clínica diaria; es un marcador de gravedad en cualquier patología en la cual se presente (Fernández R. y col., 2014).

El grado de presentación, pero sobre todo el tiempo de duración, tiene una relación importante con el pronóstico de los pacientes. Por ello, una meta fundamental en la reanimación y estabilización de todo paciente crítico, es identificar la causa del síndrome y lograr una resolución del mismo de forma rápida. La sepsis es una de las causas más frecuentes de presentación del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, por lo que el manejo intensivo cardiocirculatorio y pulmonar, el uso de antimicrobianos específicos para el foco séptico, además de los procesos quirúrgicos adecuados, marcan las prioridades terapéuticas (Mote J. D. y col., 2009).

MARCO DE REFERENCIA

Gualpa Jácome (2015), en las áreas de Emergencia, Terapia Intensiva y Hospitalización, un hospital privado de nivel II, ubicado al norte de la ciudad de Quito en la provincia de Pichincha, Guayaquil – Ecuador, realizó un estudio en donde tuvo como parte de sus objetivos principales determinar el valor predictivo positivo y predictivo negativo de la PCR cuantitativa y compararlo con la PCT cuantitativa, como biomarcador de sepsis, determinar el punto de corte al cual la PCR tiene mayor sensibilidad y especificidad, como biomarcador temprano de sepsis, versus la PCT y comparar la PCR cuantitativa y procalcitonina como biomarcadores tempranos de sepsis e inflamación en pacientes con riesgo. Se tomaron en cuenta pacientes de los servicios de Medicina Interna (hospitalización), Terapia Intensiva y Emergencia, con diagnóstico presuntivo de infección, sepsis y riesgo de sepsis en las edades comprendidas entre los 18 y los 90 años de edad; 76 pacientes en total, de los cuales al final se analizaron 63 que cumplían con los criterios de inclusión y exclusión descritos por la autora. En este trabajo de investigación la autora de esta tesis concluye que con los datos obtenidos de su investigación (PCR $p= 0.2910$; PCT $p= < 0.0001$) se estableció que la PCR cuantitativa tiene una validez clínica limitada para la discriminación de pacientes con SEPSIS o SIRS. Mientras tanto se puede establecer que la PCT es un biomarcador con mejor criterio de validez para el diagnóstico temprano de sepsis.

López-Garrido y colaboradores (2016) en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ciudad Victoria. Tamaulipas México, realizaron un estudio descriptivo, longitudinal. Se incluyeron 22 recién nacidos < 37 semanas de gestación, con o sin factores de riesgo para infección. Los neonatos con malformaciones o sospecha de enfermedad metabólica fueron excluidos. Procalcitonina y hemocultivo de cordón fueron tomados al nacimiento, posteriormente fueron valorados desde el nacimiento hasta las 72 horas de vida para datos de sepsis. Como resultados se tiene que doce desarrollaron sepsis temprana y diez no. La media de procalcitonina de cordón en el grupo de sepsis fue de 0,68 ng/ml versus de 0,13 ng/ml en el grupo sin sepsis, ($p=0.025$). En el análisis bajo el área de la curva ROC para la procalcitonina fue de 0,75. El valor de corte de

procalcitonina de cordón fue de 0,14 ng/ml como predictor de sepsis temprana (sensibilidad 75%, especificidad 70%, valor predictivo positivo 75%, valor predictivo negativo 70%).

Conclusiones: la procalcitonina de cordón umbilical al nacimiento puede ser un parámetro útil como marcador de sepsis neonatal temprana en el prematuro, sin embargo, estos resultados deben ser validados con un tamaño de muestra más grande.

Kordek y colaboradores (2014), en la Clínica de patología del recién nacido de la Universidad de Medicina de Pomerania en Szczecin, realizaron un estudio donde tuvieron como objetivo evaluar la utilidad clínica de las concentraciones de procalcitonina en sangre (PCT) para el diagnóstico y el seguimiento terapéutico de la sepsis neonatal nosocomial. El criterio de inclusión fue sepsis clínicamente manifiesta después de tres días de vida. Las concentraciones de PCT se midieron en sangre venosa de 52 recién nacidos infectados y 88 no infectados. Los resultados se interpretaron contra las concentraciones de proteína C reactiva (PCR) y los recuentos de glóbulos blancos. Como resultados se encontraron diferencias entre los dos grupos en las concentraciones de PCT y PCR fueron altamente significativas. No se observaron diferencias significativas entre los grupos para WBC. El valor umbral en la curva característica del operador del receptor fue 2.06 ng / mL para PCT, 5.0 mg/L para CRP y 11.9 x10⁹/L para. Las concentraciones de procalcitonina disminuyeron 24 horas después del inicio de la terapia con antibióticos y volvieron al nivel de control después de 5-7 días. Las concentraciones de proteína C reactiva comenzaron a disminuir después de dos días de tratamiento con antibióticos, pero aún fueron más altas que en el grupo de control después de 5-7 días de tratamiento. No se observaron cambios significativos en el recuento de glóbulos blancos durante el tratamiento. Conclusiones: las concentraciones de procalcitonina en la sangre parecen ser útiles para el diagnóstico y el seguimiento terapéutico de las infecciones nosocomiales en los recién nacidos, ya que este parámetro demuestra una mayor sensibilidad y especificidad que la proteína C reactiva. Los recuentos de glóbulos blancos parecen tener poco valor diagnóstico en la fase temprana de la infección o para el monitoreo terapéutico.

Escobar Imbaquingo (2018), realizó un estudio con el propósito de comparar el uso de proteína C reactiva, procalcitonina, conteo de leucocitos y hemocultivo entre recién nacidos a término y pretérmino para la identificación de biomarcadores de sepsis neonatal. En un estudio multicéntrico descriptivo transversal prospectivo de cohortes, desarrollado en el Hospital Pediátrico Baca Ortiz y Hospital Ginecológico Obstétrico Isidro Ayora. Se analizaron 204 casos de neonatos pretérmino y a término, con factores de riesgo y alta sospecha clínica de sepsis neonatal que sean admitidos en el periodo de septiembre a diciembre del 2018, y a quienes se evaluaron los complementarios diagnósticos al ingreso y a las 72 horas de admisión.

Se aplicó estadística descriptiva con medidas de tendencia central, e inferencial (Chi Cuadrado y Test U de Mann Whitney). Se diseñaron curvas ROC (Receiver Operating Characteristic), estableciendo sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo para los complementarios diagnósticos en relación al estándar de oro. Resultados: La cuantificación de PCR presenta sensibilidad 79-87%, especificidad 63-73%, valor predictivo positivo 44-50%, valor predictivo negativo 93-91% y cuantificación de procalcitonina con sensibilidad 73-54%, especificidad 61-84%, valor predictivo positivo 39-53%, valor predictivo negativo 87-84%. En todos los casos la cuantificación fue entre las 24 a 72 horas de vida.

Conclusión: La cuantificación de proteína C reactiva a las 24 y 72 horas, muestra poca afectación de los falsos positivos en las curvas ROC en cada una de las cohortes : a un corte de 1.5 mg/dL (Área bajo la curva: 0.922 – 0.804 – 0.917 – 0.810), hecho similar ocurre con la cuantificación de procalcitonina a un corte de 2 ng/mL (Área bajo la curva 0.744 – 0.804 – 0.714 – 0.791), y que por tanto, determinan que estos biomarcadores pueden ser utilizados para la evaluación temprana y tardía de la sepsis neonatal.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante los últimos años, la frecuencia de sepsis se ha incrementado a nivel mundial a pesar del establecimiento de lineamientos terapéuticos.

El retraso de la terapia antimicrobiana incrementa la mortalidad en pacientes críticamente enfermos, por lo que la identificación temprana de sepsis es crucial.

Hasta el momento no existe un método diagnóstico microbiológico rápido que permita el diagnóstico de sepsis, debido a que su tiempo de respuesta es prolongado por lo que la búsqueda de alternativas diagnósticas se ha convertido en una necesidad imperiosa para evitar retrasos terapéuticos.

En la actualidad se han establecido varios marcadores biológicos para el manejo de la sepsis, entre estos se encuentran proteína C reactiva de alta sensibilidad y procalcitonina (PCT). Los estudios microbiológicos son altamente específicos para el diagnóstico de sepsis, pero su tiempo de respuesta es prolongado (48-72 horas, preliminares) y no evalúan la severidad ni el pronóstico del SIRS.

Aunque en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP se utiliza la técnica de PCR de alta sensibilidad y la PCT, parece un método de diagnóstico predictivo de sepsis bacteriana, no siempre significa que ambas pruebas nos lleven a un diagnóstico certero, por consiguiente:

¿Habrán correlación entre las concentraciones de PCR y PCT para mejorar el diagnóstico en pacientes neonatos del Hospital Universitario de Puebla?

JUSTIFICACIÓN

La sepsis neonatal es uno de los principales problemas que enfrentan las unidades hospitalarias, debido a que los síntomas y signos específicos pueden no aparecer inicialmente, por lo que los estudios microbiológicos no son tan buena alternativa en algunos casos, lo que supone un reto para los médicos en el diagnóstico y en el retraso del tratamiento que puede conllevar secuelas importantes e incluso la muerte en el neonato.

De acuerdo a el Banco Mundial de Datos, en el año 2018 se reportaron 7.5 casos de mortalidad por sepsis neonatal por cada 1000 bebés nacidos vivos, cifra que se ha mantenido desde el año 2015, hasta 2019 donde el número de mortalidad aumentó a 9 bebés por cada 1000. Y aunque ha disminuido desde el año 1990 (22.1 por cada 1000 bebés nacidos vivos) es preciso poner a disposición del hospital pruebas de laboratorio clínico que puedan apoyar en el diagnóstico de los pacientes.

De acuerdo a lo anterior se realiza un estudio en el Hospital Universitario de Puebla, en el cual se pretende analizar la relación Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad con el fin de determinar si la elevación de ambos biomarcadores es significativa, y así contribuir para un diagnóstico oportuno, en pacientes con sospecha de sepsis neonatal bacteriana.

Se analizaran datos rescatados de Enero de 2018 a Junio de 2019 de las concentraciones de Procalcitonina y Proteína C reactiva de alta sensibilidad, y así poder emplear ambas pruebas como biomarcadores tempranos de sepsis neonatal, de igual manera contribuir en el tratamiento oportuno de sepsis bacteriana y así mismo evitar consecuencias a largo plazo en los neonatos, y en costos hospitalarios.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar si existe relación entre la Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, en pacientes neonatos con sospecha de sepsis neonatal bacteriana en el Servicio de UCIN en el Hospital Universitario de Puebla durante el periodo de Enero 2018 a Junio 2019.

Objetivos específicos

- Determinar si los valores de Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad reportados en expedientes son significativos para el diagnóstico oportuno en pacientes con sospecha de sepsis neonatal bacteriana.
- Observar el comportamiento de los niveles séricos de Procalcitonina, frente a los valores de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad mediante estadística inferencial representando en un gráfico de correlación
- Observar si existe una mayor prevalencia en cuanto al género del neonato y ver si influye como una variante en la detección de sepsis bacteriana.
- Contar con pruebas diagnósticas alternativas al hemocultivo dentro del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario de Puebla, que a su vez sirvan de apoyo para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento terapéutico del paciente neonato.

HIPÓTESIS

Ho. No existe relación en los valores reportados de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad para el diagnóstico de sepsis neonatal de tipo bacteriana.

H1. Sí existe relación en los valores reportados de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad para el diagnóstico de sepsis neonatal de tipo bacteriana.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de estudio

Observacional, Retrospectivo y Descriptivo

Universo de estudio

EXPEDIENTES DE pacientes neonatos del servicio de UCIN del Hospital Universitario de Puebla.

Tamaño de muestra

83 expedientes de pacientes neonatos del servicio de UCIN del Hospital Universitario de Puebla y que refieren estudios de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad.

Sede y lugar del estudio

ARCHIVO DEL Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital de Universitario de Puebla.

Criterios de selección

Inclusión	Exclusión
1. Pacientes no mayores a 30 días de nacidos 2. Pacientes neonatos del sexo femenino y masculino con sospecha de sepsis neonatal. 3. Pacientes a los que hayan referido estudios de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad	1. Pacientes mayores a 30 días de nacidos 2. Pacientes a los que solo les hayan referido uno solo de los estudios de los dos a relacionar.

Recursos humanos

Directora: M.C. María Susana Pérez Fernández

Asesora: Q.F.B. Lucelvi Cruz Pérez

Tesista: p.Q.F.B. Dalia Angélica Castillo Durán

Recursos financieros

Este proyecto fue apoyado por el archivo del Hospital Universitario de Puebla donde se encontraban los expedientes de los neonatos.

Diseño estadístico

Los resultados obtenidos del análisis de expedientes se reportaron en tablas y gráficas.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Se revisaron 83 expedientes de pacientes neonatos con sospecha de sepsis bacteriana del servicio de UCIN cuyos estudios realizados fueron: Procalcitonina (por quimioluminiscencia) y Proteína C reactiva de alta sensibilidad (por nefelometría cinética)

De acuerdo a los expedientes revisados la técnica de realizar la determinación de Procalcitonina fue a través del equipo automatizado **ARCHITECT PLUS i 2000SR SYSTEM**.

Reactivos para ARCHITECT PLUS i 2000SR SYSTEM

- Micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-PCT en tampón tris
- Conjugado de anticuerpo (monoclonal de ratón) anti-PCT marcado con acridinio en tampón fosfato
- Solución preactivadora
- Solución activadora
- Tampón de lavado

Para la cuantificación de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, se utilizó el equipo automatizado **BN Prospec**.

Reactivo para BN Prospec

- 5x5 mL *CardioPhase hsCRP*
- 3x3 mL *CardioPhase hsCRP*
- La solución *CardioPhase hsCRP* está compuesto por una suspensión de partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal (ratón) contra la PCR humana

Metodología

El ensayo a utilizar para cuantificar la concentración de Procalcitonina sérica es el Método de Quimioluminiscencia (ARCHITECT PLUS i 2000SR SYSTEM); teniendo como marco de referencia 0.05-10 ng/mL obtenido a partir de suero humano con la adición de productos químicos, constituyentes de origen humano y animal, drogas terapéuticas y estabilizadores.

Este método está basado en 2 pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA).

1. En el primer paso se combina la muestra y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo monoclonal de ratón. La procalcitonina presente en la muestra se une a las micropartículas recubiertas.
2. Después del lavado con solución salina en tampón fosfato, en el segundo paso, se añade el conjugado de procalcitonina marcado con acridinio. La solución preactivadora y activadora se añade a la mezcla de reacción produciéndose la reacción quimioluminiscente, la cual se mide en unidades relativas de luz (URL). Posteriormente atraviesa un tubo fotomultiplicador que se encargará de convertir estas unidades en ng/mL. (ESQUEMA 2)

Antes de cuantificar las muestras se llevará a cabo el corrimiento de control para procalcitonina (B.R.A.H.M.S. PCT Controls). Este producto se prepara a partir de suero humano con la adición de productos químicos, constituyentes de origen humano y animal, drogas terapéuticas y estabilizadores. Este vial se tratará de la misma manera que las muestras de los pacientes.

Para la determinación de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad se utiliza el método de inmunonefelometría con partículas intensificadoras (BN Prospec) teniendo como marco de referencia 1.0 – 3.0 mg/L obtenido a partir de suero humano con la adición de productos químicos, constituyentes de origen humano y animal, drogas terapéuticas y estabilizadores.

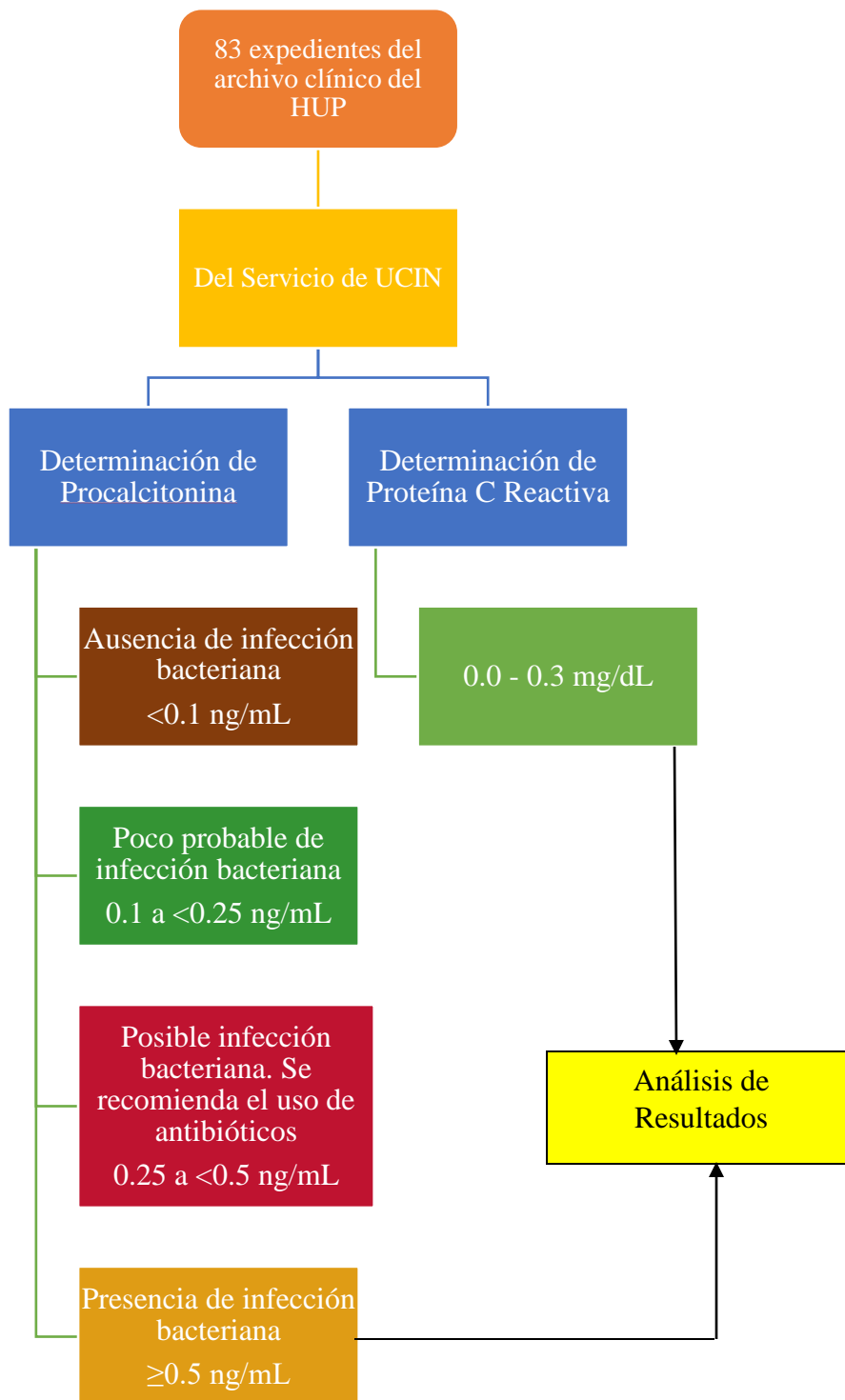
Este método está basado en que las partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal específico contra la PCR humana, al mezclarse con muestras que contienen PCR forman agregados, los cuales van a dispersar el rayo de luz incidente. (ESQUEMA 3)

La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida.

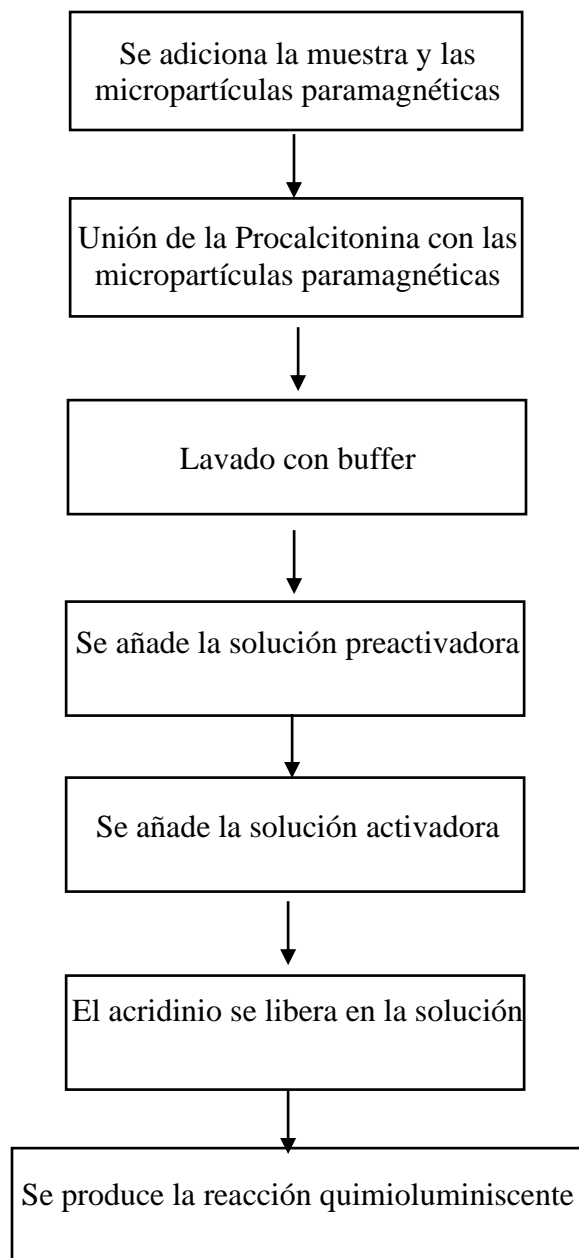
Antes de cuantificar las muestras se lleva a cabo el corrimiento de control para Proteína C Reactiva de alta sensibilidad (N/T Reuma Controles SL/1 y SL/2 así como el suero de control de Apolipoproteínas CHD). Este producto se prepara a partir de suero humano con

la adición de productos químicos, constituyentes de origen humano y animal, drogas terapéuticas y estabilizadores. Este vial se tratará de la misma manera que las muestras de las pacientes.

Esquema 1. Esquema General de Trabajo

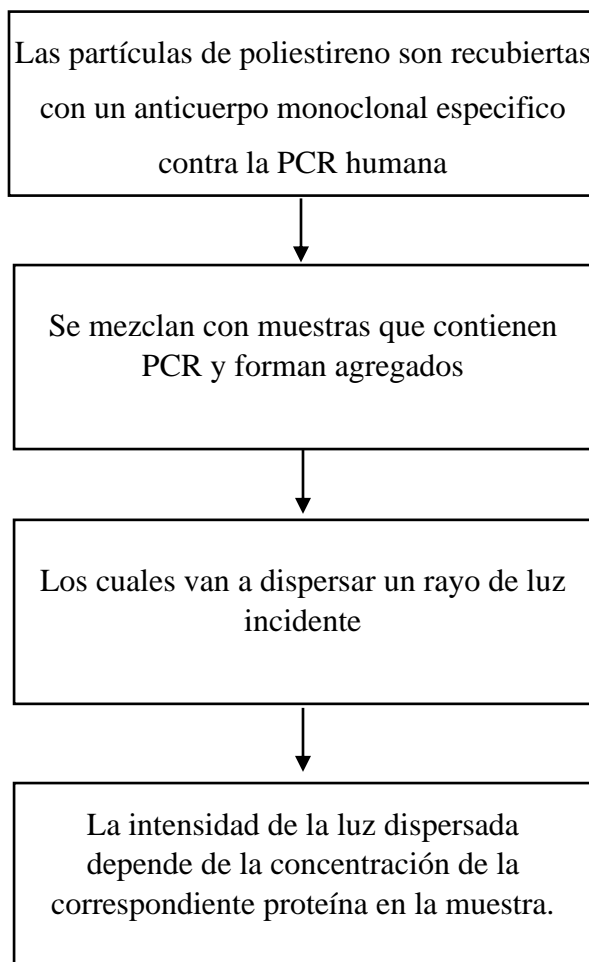


Esquema 2. Principio biológico del procedimiento de ARCHITECT PLUS i 2000SR SYSTEM Correspondiendo a un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la determinación de Procalcitonina en suero.



Fuente: Manual de operaciones del ARCHITECT PLUS i 2000SR SYSTEM.

Esquema 3. Principio biológico del procedimiento de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad en el equipo BN ProSpec, correspondiendo a un inmunoanálisis por Nefelometría.



Fuente: Manual de procedimiento para la determinación de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

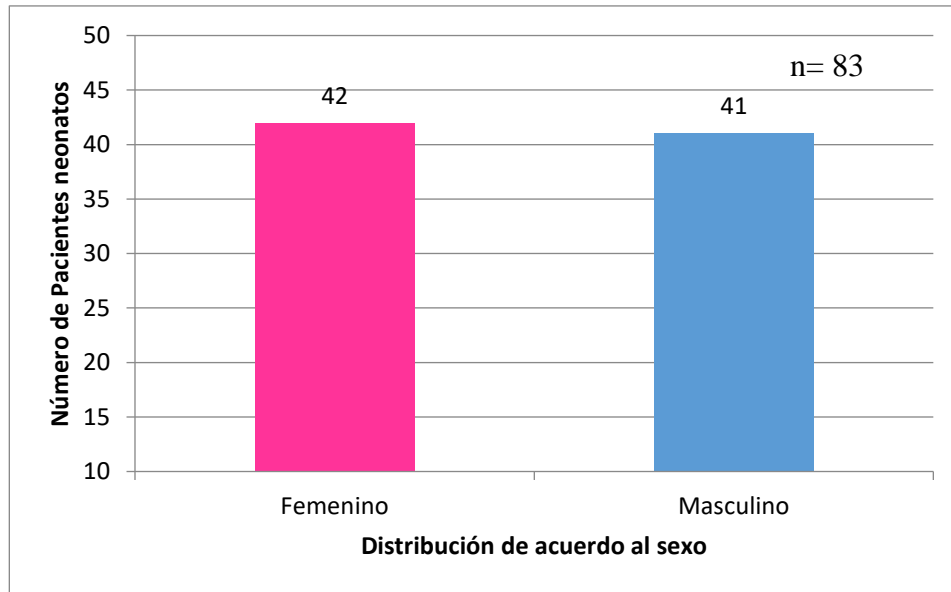
De los 83 expedientes revisados de neonatos con sospecha de sepsis neonatal bacteriana, y con estudios realizados de Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad en el laboratorio de Análisis Clínicos del HUP en el periodo de Enero 2018 a Junio 2019 se encontró lo siguiente:

Tabla 2. Resultados de pacientes neonatos a los que se les realizó determinación de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad.

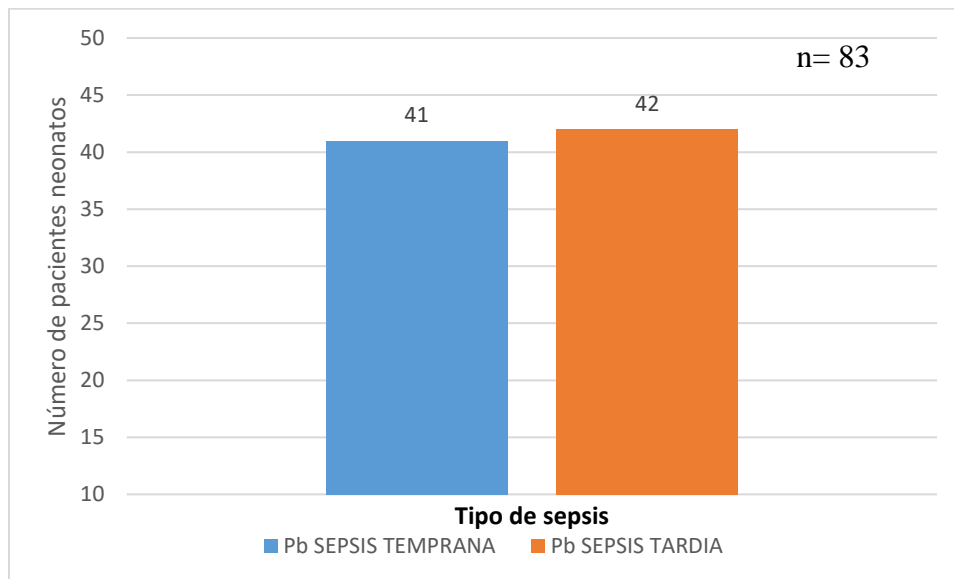
Edad	Femenino	Masculino	Rango de valores de Procalcitonina ng/mL	Rango de valores de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad en mg/dL
0 a 5 días	23	23	0.06 - 42.92	0.0152 - 8.96
6 a 10 días	12	12	0.05 - 24.96	0.0152 - 1.3
11 a 15 días	3	1	0.06 - 2.3	0.0445 - 2.81
16 a 20 días	2	0	1.52 - 2.02	0.0599 - 2.71
21 a 25 días	1	1	0.25 - 0.77	0.423 - 0.446
26 a 30 días	1	4	0.10 - 1.77	0.0338 - 2.34

Tabla. 3. Resultados de pacientes neonatos clasificados de acuerdo a los valores de referencia de PCT establecidos por el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP y la incidencia de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad elevada.

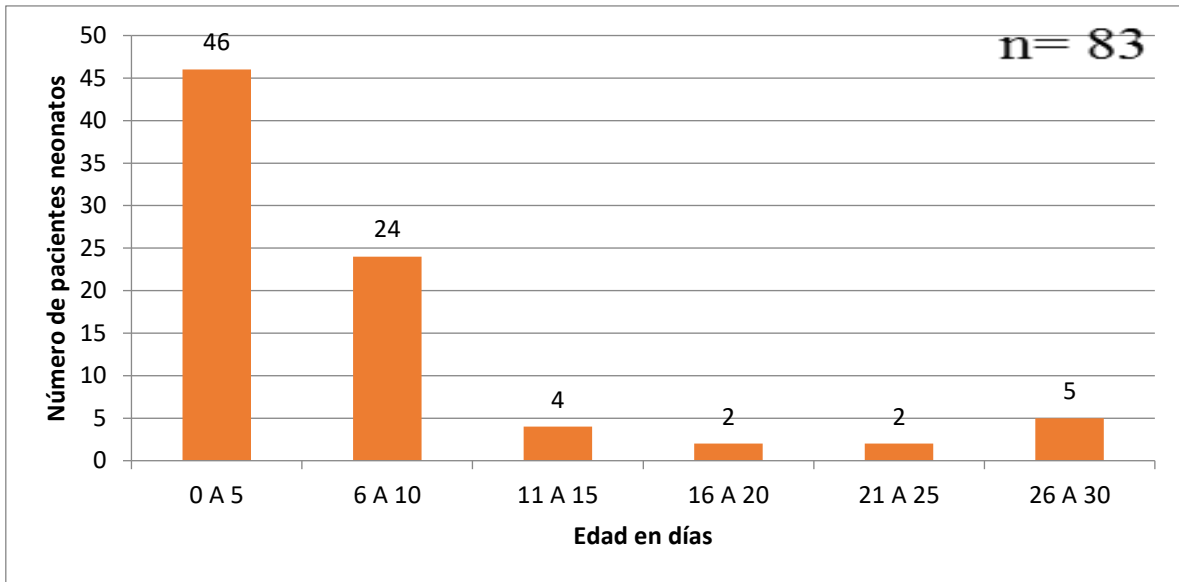
Valores de referencia de PCT en ng/mL		Pacientes con valores reportados de PCT (general)	Pacientes con valores reportados de PCR de alta sensibilidad elevados
< 0.1	Ausencia de infección bacteriana	11	1
0.1 A <0.25	Poco probable de infección bacteriana	11	0
0.25 A <0.5	Posible infección bacteriana. Se sugiere uso de antibiótico	12	3
≥0.5	Presencia de infección bacteriana	49	21



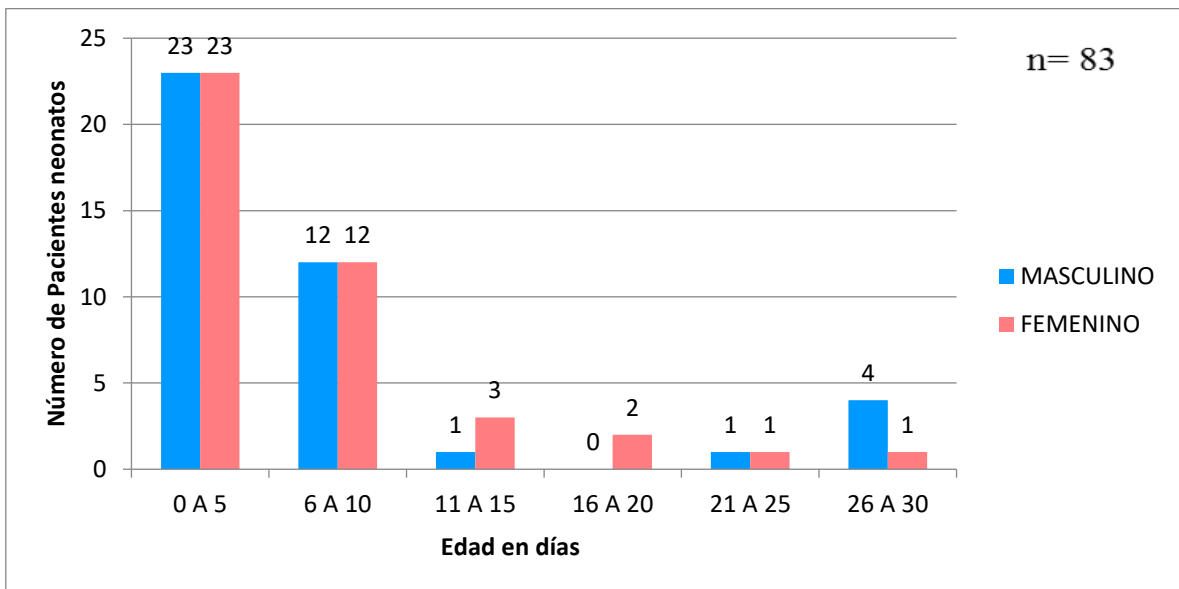
Gráfica No. 1.- Distribución de pacientes neonatos de acuerdo al género a los que se les realizó determinación de PCT y PCR.



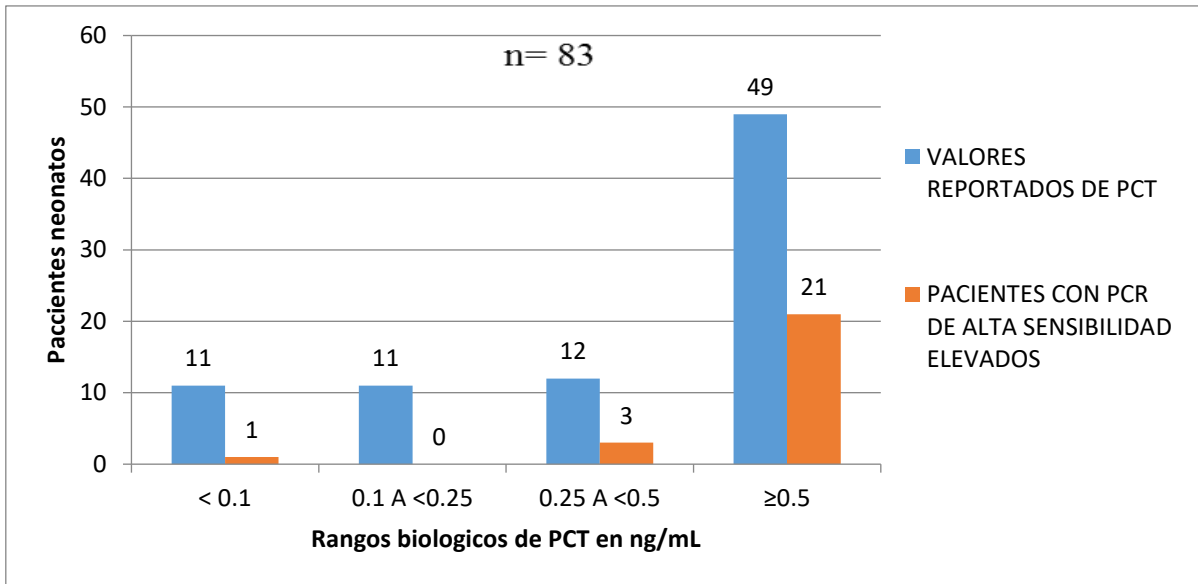
Gráfica No. 2.- Distribución de pacientes neonatos con probable sepsis temprana o tardía.



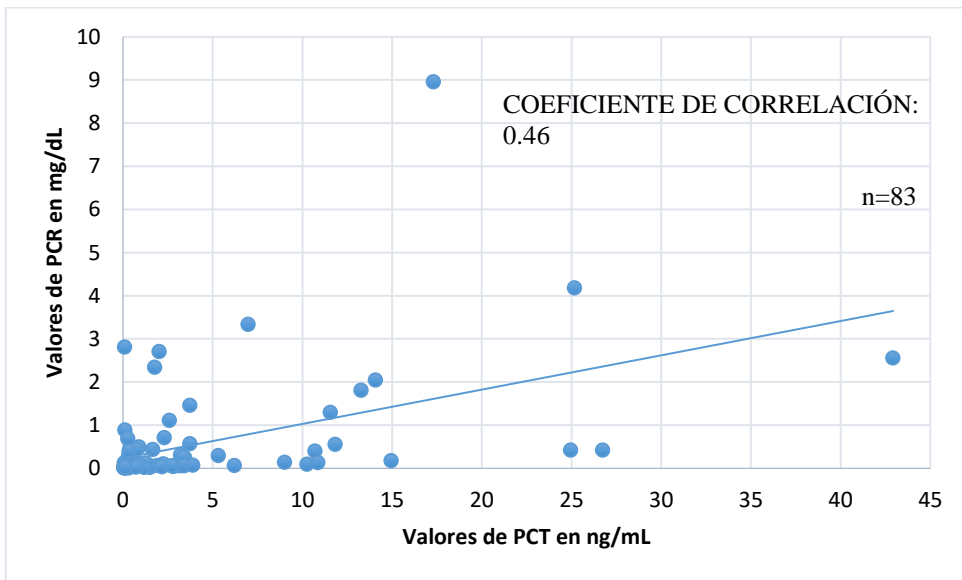
Gráfica No. 3.- Distribución total de la frecuencia de edades en días de la población de estudio a los que se les realizaron ambas pruebas.



Gráfica No. 4.- Distribución de pacientes neonatos a los que se les realizó estudios de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad de acuerdo a su rango de edad y género.



Gráfica No. 5.- Distribución total de la frecuencia de valores de PCT frecuencia en la que la Proteína C Reactiva de alta sensibilidad se elevada de acuerdo a los rangos establecidos en el laboratorio de Análisis Clínicos del HUP.



Gráfica No 6.- Distribución de los valores de PCT relacionado con los valores de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, de los 83 expedientes revisados.

Tabla 4. Resultados de pacientes neonatos a los que se les realizó determinación de PCT y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, en los cuales ambos biomarcadores están elevados de acuerdo a los valores de referencia establecidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP.

EDAD EN DÍAS	SEXO	RESULTADO PROCALCITONINA (ng/mL)	RESULTADO PROTEÍNA C REACTIVA DE ALTA SENSIBILIDAD (mg/dL)
6 d	F	10.71	0.4
10 d	F	3.73	0.568
8 d	M	11.56	1.3
3 d	M	3.21	0.314
27 d	M	1.77	2.34
27 d	M	1.65	0.437
3 d	F	2.58	1.11
2 d	M	42.92	2.56
7 d	M	0.90	0.496
1 d	F	17.30	8.96
18 d	F	2.02	2.71
21 d	F	0.77	0.446
2 d	F	3.73	1.46
7 d	F	24.96	0.423
1 d	F	11.82	0.556
1 d	M	14.08	2.05
14 d	F	2.3	0.711
3 d	F	6.98	3.34
1 d	M	26.74	0.425
4 d	F	25.16	4.18
3 d	F	13.27	1.81

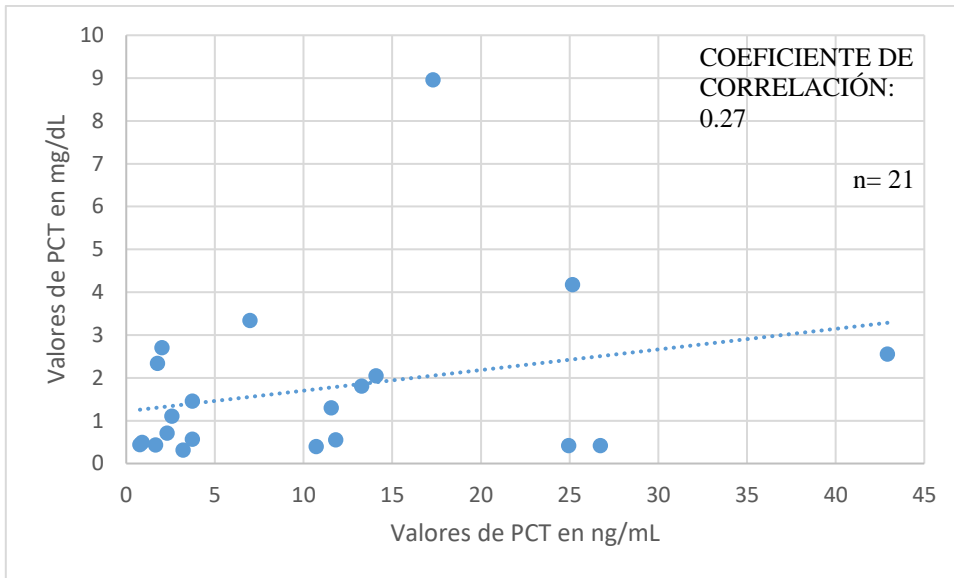


Gráfico 7.- Distribución de los datos recabados de valores de PCT relacionado con los valores de PCR, en los cuales ambos biomarcadores se encuentran elevados.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Del análisis realizado en los 83 expedientes de pacientes neonatos de la unidad de cuidados intensivos neonatales del Hospital Universitario de Puebla con sospecha de sepsis neonatal, en un periodo que comprende de Enero 2018 a Junio 2019, se observa que no hay una prevalencia específica de un género, ya que 42 de los pacientes fueron del género femenino y 41 del género masculino, esto nos demuestra que el género no influye en el diagnóstico de sepsis bacteriana en esta población estudiada.

Se clasificaron los datos por rangos de edad en días abarcando ambos sexos, y a su vez se realizó una clasificación de rangos de la Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, se establece el valor reportado más alto reportado según cada rango edad, esto nos da una idea de la importancia de la edad del neonato en el diagnóstico de sepsis bacteriana, en cuanto a la PCT, puesto que los valores más altos reportados se encuentran en el rango de edad desde RN (día 0) hasta sus primeros 10 días de vida del paciente, se observa el mismo comportamiento en los datos obtenidos de la Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, en donde hay una elevación significativa en el rango de edad en días que es desde RN hasta los primeros 5 días de vida.

También se realizó una clasificación de datos de acuerdo a los valores de referencia de PCT establecidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP y se compara con las veces en las que la Proteína C reactiva de alta sensibilidad se elevó en estos casos, denotando que de 49 casos en los que la PCT tuvo como resultados valores ≥ 0.5 ng/mL, la Proteína C reactiva de alta sensibilidad se elevó en 21 de estos casos. Esta discrepancia pudo deberse a que las pruebas fueron realizadas en diferente horario pero mismo día y en este intermedio pudo interferir un tratamiento con antibiótico.

Al realizar la distribución de los pacientes por clasificación de probable sepsis temprana o tardía, de acuerdo a su edad en días y fecha en la que se les realizaron las determinaciones de Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, se observa que no hay una prevalencia específica en esta clasificación. La sepsis de aparición temprana se diagnostica en las primeras 72 horas de vida. La sepsis de aparición tardía ocurre después de las 72 horas de vida del paciente neonato. (Gráfica No. 2)

En el gráfico número 3 se representa la frecuencia de edad en días abarcando los datos de los 83 expedientes revisados, en donde se aprecia que los momentos de importancia clínica se encuentra prevalentes en un rango de edad que comprende de 0 hasta 10 días de vida, lo cual marca un punto clave e importante para poder detectar sepsis neonatal de tipo bacteriano a tiempo. (Gráfica No. 3) Se observa también que la distribución de la población en cuanto al sexo, se encuentra en un 50% femenino y 50% masculino en un rango de edad en días que abarca RN o día 0, hasta los 10 días de vida del paciente neonato. (Gráfica No. 4)

Se realizó un gráfico con los rangos biológicos de PCT establecidos por el HUP de los datos recolectados de los 83 expedientes de pacientes neonatos donde se observa mayor incidencia en el rango biológico ≥ 0.5 ng/mL, que teóricamente comprueba la presencia de infección bacteriana. Y a su vez también se representa en el gráfico la frecuencia con la que la Proteína C reactiva de alta sensibilidad, se eleva en cada rango. A simple vista se observa que no hay una relación estrecha entre un biomarcador y otro. (Gráfica No. 5)

Para establecer una correlación entre la Procalcitonina y la Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, se empleó el uso de estadística inferencial, donde se realizó un gráfico de dispersión, tomando en cuenta los datos del 100% de la población, es decir los 83 expedientes de pacientes neonatos con sospecha de sepsis bacteriana, para observar con mayor claridad el comportamiento de los datos recabados, y comprobar si en algún punto estos tocan la línea de tendencia. A simple vista se observa que no tienen un comportamiento lineal; por cálculo se obtiene el coeficiente de correlación, que es el que determina la fuerza de asociación y mide la fuerza y el sentido de la relación lineal, se obtiene como resultado un coeficiente de correlación de 0.46 que en términos estadísticos nos indica que sí existe una asociación lineal positiva pero es DÉBIL puesto que está muy cercana a 0 y demuestra a su vez que la relación no es significativa. (Gráfica No. 6)

Posteriormente se recabaron únicamente los datos de pacientes neonatos en los que ambos biomarcadores rebasaron los rangos biológicos normales establecidos por el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP los cuales se plasman en la Tabla No. 4 con un total de 21 expedientes. Se realizó un segundo gráfico de dispersión con los datos recabados en la Tabla No. 4, se observa que no siguen una conducta perfectamente lineal, se aplica

nuevamente estadística inferencial y se obtiene el coeficiente de correlación entre ambos biomarcadores el cual da como resultado 0.27, lo que indica que existe una asociación lineal positiva pero es MUY DÉBIL puesto que está muy cercana a 0 y demuestra a su vez que la relación no es significativa, o bien que no existe relación entre la PCT y PCR. (Gráfica No. 7)

Los valores reportados de Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad obtenidos de los pacientes neonatos con sospecha de sepsis son significativos en pocos casos, el uso de ambos biomarcadores presenta resultados variables con cada paciente.

Se pudo observar que el comportamiento de los niveles séricos de Procalcitonina tienen una mejor respuesta comparándolo con los valores séricos de Proteína C Reactiva de alta sensibilidad, frente a una sospecha de sepsis bacteriana, ya que existe evidencia de que no se libera en cantidades significativas en el caso de infecciones virales, o de aquellas bacterianas de tipo intracelular, tomando en cuenta el rango biológico establecido por el Laboratorio de Análisis Clínicos del HUP, ya que es como se puede comprar teóricamente o no la presencia de infección de tipo bacteriana. De acuerdo a algunos autores como Gualpa y Kordek reportan que la procalcitonina es un biomarcador con mejor criterio de validez para el diagnóstico temprano de sepsis, en cambio la PCR tiene mejor validez como evaluador de tratamiento con antibiótico.

CONCLUSIONES.

Al analizar los valores de PCT y PCR obtenidos de los expedientes de los pacientes neonatos del HUP, se establece que ambas pruebas son significativas y de gran ayuda en el diagnóstico y pronóstico sepsis bacteriana, pero no de manera conjunta en la mayoría de los casos.

Mediante un gráfico de dispersión se establece que no existe correlación entre la Procalcitonina y Proteína C Reactiva de alta sensibilidad.

Se realizó una clasificación de acuerdo al género del neonato para observar si éste influía como una variante significativa en la detección de sepsis y se encontró que no existe mayor prevalencia en un solo género, por lo tanto no influye en el diagnóstico.

Después de estudiar el comportamiento de ambos biomarcadores en sospecha de sepsis neonatal de tipo bacteriana, podemos ver que existen ensayos que por si solos podrían ser de mayor utilidad en el diagnóstico temprano de sepsis, como lo es la Procalcitonina, lo que mejoraría a emitir resultados rápidos y concretos, a su vez contribuiría al diagnóstico oportuno y posteriormente a dar el mejor tratamiento terapéutico. En cambio si bien la PCR, no es muy discriminativa en el diagnóstico de sepsis, tiene valor pronóstico que ayuda a evaluar el tratamiento en el paciente.

Con este estudio se logró evaluar pruebas diagnósticas alternativas al hemocultivo dentro del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario de Puebla, que a su vez sirvan de apoyo para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento terapéutico del paciente neonato.

Estas proporciones son parámetros inherentes a la prueba diagnóstica, en términos generales, menos dependientes de la prevalencia de la enfermedad. Como se puede inferir de la definición de sensibilidad y especificidad, la orientación de estos parámetros es en el sentido opuesto del razonamiento de toma de decisión clínica y por ende su información no es necesariamente útil para el caso.

PROPUESTAS

Se desconoce mucho del archivo clínico del paciente y su evolución con la posible infección y tratamiento terapéutico por lo que se propone realizar un estudio prospectivo en el cual deberán ser solicitados en conjunto los estudios de procalcitonina y proteína C reactiva de alta sensibilidad, en este caso estas pruebas deberán ser tomadas en un mismo tubo para poder establecer una mejor relación y discriminar interferencias sobre un tratamiento previo de por medio entre cada prueba. Se deberá solicitar acceso al archivo clínico para analizar mejor los resultados de estas pruebas con la sintomatología del paciente, para mejorar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento terapéutico.

BIBLIOGRAFIA

1. Jattin, F. M., Villegas, Y. R., Pájaro, L. Q., Santander, H. C., Báez, K. M., Martínez, M. H., & Salazar, L. R. M. (2018). Procalcitonina como marcador pronóstico y diagnóstico en pacientes con injuria miocárdica. *Archivos de medicina*, **14**(3), 3.
2. Meisner, M. (2010). Procalcitonin-biochemistry and clinical diagnosis. Dresden (Germany): UNI-MED-Verlag.
3. Lee, H. (2013). Procalcitonin as a biomarker of infectious diseases. *The Korean journal of internal medicine*, **28**(3), 285.
4. Kim, J., Kim, S. E., Park, B. S., Shin, K. J., Ha, S. Y., Park, J., & Park, K. M. (2016). Procalcitonin as a diagnostic and prognostic factor for tuberculosis meningitis. *Journal of Clinical Neurology*, **12**(3), 332-339.
5. Balci, C., Sungurtekin, H., Gürses, E., Sungurtekin, U., & Kaptanoğlu, B. (2002). Usefulness of procalcitonin for diagnosis of sepsis in the intensive care unit. *Critical Care*, **7**(1), 85.
6. Christ-Crain, M., & Müller, B. (2007). Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. *European Respiratory Journal*, **30**(3), 556-573.
7. Gilbert, D. N. (2010). Use of plasma procalcitonin levels as an adjunct to clinical microbiology. *Journal of clinical microbiology*, **48**(7), 2325-2329.
8. Anand, D., Das, S., Bhargava, S., Srivastava, L. M., Garg, A., Tyagi, N., & Ray, S. (2015). Procalcitonin as a rapid diagnostic biomarker to differentiate between culture-negative bacterial sepsis and systemic inflammatory response syndrome: a prospective, observational, cohort study. *Journal of critical care*, **30**(1), 218-e7.
9. Dahaba, A. A., & Metzler, H. (2009). Procalcitonin's role in the sepsis cascade. Is procalcitonin a sepsis marker or mediator? . *Minerva anesthesiologica*, **75**(7-8), 447-452.

10. Escobar, J. A. V., Rivera, E. F. B., Porras, P. C. R., Abril, F. G. M., & Diaz, J. M. O. (2014). Valores de procalcitonina en pacientes diagnosticados como sepsis bacteriana en una Unidad de Cuidado Intensivo. *Infectio*, 18(3), 86-92.
11. Coy Mayorga, A. Y. (2011). Uso predictivo de la procalcitonina en infecciones bacterianas severas en niños. *Revision sistemática de la literatura (Doctoral dissertation, Universidad del Rosario)*.
12. Jensen, J. U., Heslet, L., Jensen, T. H., Espersen, K., Steffensen, P., & Tvede, M. (2006). Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Critical care medicine*, 34(10), 2596-2602.
13. Urquiza Ayala, G., & Arteaga Coariti, R. (2017). Proteína c reactiva en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades infecciosas en pacientes geriátricos. *Revista Médica La Paz*, 23(2), 69-73.
14. Jeschke, M. G., Finnerty, C. C., Kulp, G. A., Kraft, R., & Herndon, D. N. (2013). Can we use C-reactive protein levels to predict severe infection or sepsis in severely burned patients?. *International journal of burns and trauma*, 3(3), 137.
15. Henriquez-Camacho, C., & Losa, J. (2014). Biomarkers for sepsis. *BioMed research international*, 2014.
16. Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Lowe, G., Pepys, M. B., Thompson, S. G., Collins, R., Wood, A. M. (2010). C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: An individual participant meta-analysis. *The Lancet*, 375(9709), 132–140.
17. Zea-Vera, A., Turin, C. G., & Ochoa, T. J. (2014). Unificar los criterios de sepsis neonatal tardía: propuesta de un algoritmo de vigilancia diagnóstica. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*, 31, 358-363.
18. Camacho-Gonzalez, A., Spearman, P. W., & Stoll, B. J. (2013). Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatric Clinics of North America*, 60(2), 367.

19. Barati, M., Alinejad, F., Bahar, M. A., Tabrisi, M. S., Shamshiri, A. R., & Karimi, H. (2008). Comparison of WBC, ESR, CRP and PCT serum levels in septic and non-septic burn cases. *Burns*, 34(6), 770-774.
20. Lopez, A. F., Cubells, C. L., García, J. G., & Pou, J. F. (2003). Procalcitonin in pediatric emergency departments for the early diagnosis of invasive bacterial infections in febrile infants: results of a multicenter study and utility of a rapid qualitative test for this marker. *The Pediatric infectious disease journal*, 22(10), 895-904.
21. Santos, A. M., & Gómez, M. (2016). Utilidad de la proteína C reactiva para identificar los recién nacidos con riesgo de infección. *Bol. venez. infectol*, 27(2), 113-116.
22. Emmerson, A. J. (2011). C-reactive protein and the newborn infant. *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice*, 96(3), e1-e1.
23. Quintero, A. O. P. (2014). SEPSIS NEONATAL. *Revista Pediátrica Hospital Puerto Montt*.
24. Tite Tibanquiza, K. M. (2017). Principales factores de riesgo de sepsis neonatal en pacientes del Hospital José María Velasco Ibarra de Tena en el período noviembre 2015-marzo 2016 (Bachelor's thesis).
25. Gomez, R., Romero, R., Ghezzi, F., Yoon, B. H., Mazor, M., & Berry, S. M. (1998). The fetal inflammatory response syndrome. *American journal of obstetrics and gynecology*, 179(1), 194-202.
26. Balk, R. A. (2014). Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) Where did it come from and is it still relevant today?. *Virulence*, 5(1), 20-26.
27. Ruibal León, A., Fernández Machín, L. M., & González García, V. M. (2004). Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. *Revista Cubana de Medicina*, 43(4), 0-0.
28. Fernández, R., Lezama, P. M., Figueroa, M., & Velásquez, P. M. (2014). Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y disfunción orgánica en urgencias pediátricas. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 77(3), 116-119.

29. Mote, J. D., López, R. E., Rojas, E. G. S., Leños, J. D. S., Meza, S. D., & Castro, V. E. L. E. (2009). Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Aspectos fisiopatológicos. *Revista de la asociación Mexicana de medicina crítica y terapia intensiva*, 23(4).
30. López-Garrido, E., González-Quintanilla, M. A., Berlanga-Bolado, O. M., Fortuna Reyna, B. D. J., & Rivera-Vázquez, P. (2018). Procalcitonina de cordón umbilical como predictor de sepsis temprana en recién nacidos prematuros “en Tamaulipas, México 2016”. Resultado preliminar. *Medicas UIS*, 31(1), 23-30.
31. Gualpa Jácome, G. G. (2015). Comparación de PCR cuantitativa Y procalcitonina como biomarcador temprano de sepsis e inflamación en pacientes que acuden a un hospital de segundo nivel del norte de Quito en el periodo Abril-Junio 2014 (Master's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).
32. Kordek, A., Łoniewska, B., Podraza, W., Nikodemski, T., & Rudnicki, J. (2014). Usefulness of estimation of blood procalcitonin concentration versus C-reactive protein concentration and white blood cell count for therapeutic monitoring of sepsis in neonates. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej*, 68, 1516–1523.
33. Escobar Imbaquingo, I. M. (2018). Estudio epidemiológico, descriptivo, multicéntrico transversal comparativo entre dos cohortes de recién nacidos a término y recién nacidos pretérmino, usando biometría hemática, proteína C reactiva, procalcitonina y hemocultivo para la identificación de biomarcadores de sepsis neonatal (Master's thesis, Quito).
34. Labraña, Yenis. (2015). Infecciones del torrente sanguíneo en neonatos y proteína C reactiva normal. *Revista chilena de infectología*, 32(5), 597