

## Nuestros autores hace 30 años. Diagnóstico precoz de la sepsis neonatal

*Anales Españoles de Pediatría; 31 Suppl 38:38-43*

**E. Doménech, A. Pérez, F. Domínguez, A. Méndez, R. Castro y C. Ormazábal.**

**Comentado por: Abián Montesdeoca Melián.**

Centro de Salud de Guanarteme.

.....

Suena el busca a las 04:17. Las peores situaciones en un hospital siempre aparecen a esas horas. Es como si acecharan, como si una mente inteligente las rigiera y, cuando todo está aparentemente en calma... ¡zas!, aparecen súbitamente. Marco el teléfono de la UCIN, que es de donde me llaman. Me contesta la R3 que me acompaña en la guardia, quien ya ha actuado y tiene prácticamente controlada la situación. *Qué buena es*, pensé. Se trata de un recién nacido femenino que tiene unas 18 horas de vida, pretérmino de 36 semanas y 2160 g al nacer. Es fruto del tercer embarazo de una mujer sana, portadora de estreptococo del grupo B, con bolsa rota de 10 horas y un parto eutócico, precipitado, por lo que apenas sí dio tiempo de que le pasara una dosis de penicilina V. Y todos sabemos lo que les pasa a las *profilaxis incompletas*: que se llevan un pinchazo. Como al nacimiento estaba asintomática, la analítica se hizo como mandan los cánones, a las 12 horas de vida. El hemograma y la PCR resultaron normales, por lo que se mantuvo en observación a la espera del resultado del hemocultivo (con casi toda seguridad negativo), pendiente de su evolución clínica.

Apenas 6 horas más tarde de hacerse esa analítica, ocurrió. Se desató la tormenta inflamatoria y al ir a amamantarla, la madre la encuentra respirando con dificultad. Avisa al personal de enfermería y estas, a la R3. Evaluación rápida: mal aspecto, cutis marmóreo, hipotonía generalizada, distrés respiratorio, polipnea, satO<sub>2</sub> 91 %, FC 186 lpm, TA 78/37 mmHg. Hipoventilación bilateral, soplo sistólico, abdomen distendido, fontanela plena, no a tensión, pulsos saltones, relleno capilar de 4 segundos. La R3 actúa: ABCD. Ventilación no invasiva inicial (más tarde habría que intubarla), aporte de oxígeno (FiO<sub>2</sub> 60 %), vía venosa, volumen y aminos, muestras de sangre y LCR (laboratorio de urgencias y microbiología). Rx de tórax: pulmón blanco bilateral. Hemograma: 4280 leucocitos/mm<sup>3</sup> con 1530 neutrófilos/mm<sup>3</sup>, l/T 0,6, Hb de 13 g/dl,

47 000 plaquetas/mm<sup>3</sup>. PCR de 18,6 mg/L, PCT de 23,9 ng/ml. LCR, sin alteraciones. Inicio de ampicilina y gentamicina. No ha crecido en los cultivos, pero seguro que es un *S. agalactiae*, todos lo sabemos, una sepsis neonatal precoz con neumonía que se escapó del protocolo. Los biomarcadores, en este caso, fallaron. En otros muchos, suponen iniciar un tratamiento antibiótico empírico sin necesidad. La niña se estabilizó y salió adelante sin secuelas, gracias a que se actuó rápidamente (podría no haber sido así). ¡Bravo por la R3!

### Introducción

Estamos entrando en el 2020. Cuando estábamos en los noventa, imaginábamos que, a estas alturas, los androides controlarían el planeta. Fantasábamos con el futuro y lo que jamás habríamos imaginado es que, a estas alturas, todavía no hubiéramos resuelto uno de los dilemas más antiguos de la Neonatología y la Infectología Pediátrica: ¿este neonato asintomático, pero con factores de riesgo de sufrir una sepsis, está en las etapas iniciales de una infección bacteriana grave? ¿Podemos esperar a ver la evolución o debemos ser agresivos e iniciar tratamiento antibiótico empírico de inmediato? ¿Qué biomarcador podría permitir adelantarnos a la sepsis sin que ello implique abusar de pruebas complementarias o instaurar antibióticos innecesarios en una alta proporción de recién nacidos? El diagnóstico precoz de la sepsis neonatal de origen vertical continúa siendo un reto por depender de una técnica que se ha demostrado poco útil en la práctica: el hemocultivo. Además de proporcionar un diagnóstico tardío, las limitaciones del hemocultivo vienen condicionadas por la administración de antibióticos a la madre durante el parto, el escaso volumen de sangre que se envía al laboratorio para cultivar en el caso de los neonatos y el hecho de que la bacteriemia, en este contexto, sea un fenómeno



intermitente. A día de hoy, lo recomendable es tomar del recién nacido al menos una muestra por punción venosa (idealmente dos) de, al menos, 1 ml e inocularla en un frasco de cultivo de aerobios (siendo habitualmente innecesario el de anaerobios). La clínica de la sepsis neonatal precoz es inespecífica y, una vez instaurada, puede ser difícil revertirla, interviniendo en ello múltiples condicionantes definidos por: el estado de salud de la madre, la presencia de patógenos específicos en el canal del parto, el curso de la gestación, las condiciones del nacimiento y la existencia o no de prematuridad. Al ser algunos de estos factores incontrolables, sería deseable contar con biomarcadores detectables rápidamente en sangre y que puedan predecir precozmente la aparición de la temida cascada inflamatoria sistémica.

Conforme han pasado los años, los neonatólogos han comprobado con preocupación que, si bien es verdad que con la instauración de protocolos relativamente agresivos se ha conseguido disminuir la mortalidad relacionada con la sepsis precoz, esto se ha hecho a costa de someter a un gran porcentaje de recién nacidos sanos a pruebas complementarias innecesarias y a tratamientos no indicados (antibióticos). Es por ello que ya desde hace décadas los esfuerzos se han encaminado en lograr discernir entre los que realmente desarrollarán una sepsis y los que simplemente tienen factores de riesgo. Además, hemos de recordar que ha habido cambios en otros ámbitos que han influido también en un mayor control de la sepsis precoz, como el cribado de estreptococo B a todas las gestantes por encima de las 34 semanas con la intención de administrar profilaxis antibiótica intraparto, el mejor seguimiento del embarazo en general y un manejo más intensivo de las sospechas de corioamnionitis.

Pero, en nuestra opinión, la razón más importante para intentar definir bien a los recién nacidos con mayor riesgo a sufrir sepsis neonatal es la acuciante necesidad de disminuir la exposición innecesaria de los pacientes a tratamientos con antibióticos. Para la Organización Mundial de la Salud, la creciente resistencia de especies bacterianas a los antibióticos representa una de las diez amenazas más importantes para la salud global en 2019<sup>1</sup>. Nuestro país se sitúa en los puestos más altos del ranking de consumo de antibióticos y, consecuentemente, también en el de resistencias a los mismos. Más de 30 000

personas mueren anualmente en Europa por culpa de la resistencia a los antibióticos y, de ellas, 3000 en España, un número que podría llegar a 40 000 dentro de 35 años si no se ponen en marcha estrategias efectivas urgentes en nuestro país. En este sentido, España impulsó en 2014 su Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), el cual fue aprobado en el año 2014 por el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud (CISNS) y por la Conferencia Intersectorial de Agricultura con un periodo de vigencia de cinco años (2014-2018) y un enfoque integral que contempla la salud humana, la sanidad animal y el medioambiente<sup>2</sup>. Dentro del PRAN se desarrollan, a nivel de las comunidades autónomas, los PROA (Programas de Optimización de Uso de los Antibióticos), tanto en el ámbito hospitalario como en el de Atención Primaria. Tras la experiencia acumulada entre los años 2014 y 2018, el nuevo PRAN 2019-2021 define los objetivos y las líneas de actuación para cada grupo de trabajo y en cada ámbito, tras un análisis exhaustivo de las fortalezas y debilidades de las acciones llevadas a cabo en los años precedentes. En el campo de la neonatología, el uso individualizado de antibióticos con el menor espectro posible y la retirada precoz tras comprobación de buena evolución clínica/analítica y negatividad de hemocultivos son dos de las bases de esta política en pos de la lucha contra la multirresistencia antimicrobiana.

Hace ahora 30 años, unos compañeros pertenecientes al Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Canarias, liderados por el insigne Eduardo Doménech, pediatra y neonatólogo que dejó una huella indeleble en la Pediatría española, publicaron una magnífica revisión sobre los marcadores analíticos de diagnóstico de la sepsis neonatal.

En su trabajo, los autores revisaron la bibliografía más actual en esos tiempos, analizando la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo negativo de distintas pruebas, algunas de ellas no disponibles en la práctica diaria, por encontrarse en investigación o por ser dependientes de una tecnología sólo asumible por unos pocos centros de referencia internacional.

## Parámetros hematológicos



La utilidad de la valoración del hemograma y sus alteraciones como predictores de sepsis neonatal sigue siendo indiscutible hoy en día. Los autores destacan el valor del recuento total de leucocitos, en especial de neutrófilos, donde una elevación muy marcada o, mejor, un descenso en el número total de neutrófilos se relaciona con la presencia de sepsis. Hay que tener en cuenta que la cifra normal de neutrófilos en sangre periférica varía con la edad gestacional, la procedencia de la muestra (capilar, venosa o arterial), la altitud, el tipo de parto (inferior en nacidos por cesárea), condicionantes maternos (hipertensión, fiebre), eventos perinatales (hemorragia intracraneal, asfixia, neumotórax, síndrome de aspiración meconial) y las horas de vida. La neutropenia tiene mejor especificidad en el diagnóstico de sepsis neonatal, traduciendo un agotamiento medular por la producción masiva en respuesta a la infección. Sin embargo, ni la elevación en el número de neutrófilos, ni la neutropenia, pueden usarse de manera aislada para asegurar la presencia de sepsis. De mayor valor, en términos de sensibilidad, resulta la relación entre neutrófilos inmaduros y totales, el también denominado índice I/T. Un valor superior a 0,2 se relaciona con la presencia de sepsis neonatal (muestra extraída entre las 6 y las 12 horas de vida). Es especialmente remarcable su valor predictivo negativo, ya que es infrecuente que un paciente con una sepsis instaurada tenga un I/T inferior a 0,2. Lo contrario no es cierto, una elevación del I/T no siempre se corresponderá con infección. Otro aspecto a destacar en la valoración del hemograma en este contexto es la cifra de plaquetas. La trombocitopenia se relaciona con la sepsis neonatal, aunque es un signo tardío. Su valor principal en este escenario es la alta especificidad que tiene (superior al 95%). Todos estos conocimientos se tenían ya hace 30 años, tal y como se relata de una forma muy rica en el artículo de nuestros compañeros. Ellos, además, hablan de una hipotética aplicabilidad de la prueba de reducción del nitroazul de tetrazoilo, como una forma de medir el aumento en la actividad metabólica de los polimorfonucleares en la sepsis, encontrando para cifras por encima del 40 % una especificidad de hasta el 89 %. Esta técnica en la actualidad no se usa para el diagnóstico de la sepsis neonatal, habiendo quedado relegada (y superada por otras) casi exclusivamente para el diagnóstico de inmunodeficiencias relacionadas con la capacidad oxidativa de los neutrófilos

(como la enfermedad granulomatosa crónica, por ejemplo).

## Pruebas en suero

Como ya adelantan los autores, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica de causa infecciosa conlleva la activación de múltiples y complejos fenómenos sistémicos, rutas metabólicas y de señalización química intercelular que concluirán con la liberación al torrente sanguíneo de diversas sustancias susceptibles de ser medidas. Nuestros compañeros, hace 30 años, nombran experiencias publicadas con la haptoglobina, el orosomucoide (alfa-1-glicoproteína ácida), el fibrinógeno o el complemento, todas ellas con cierto valor diagnóstico, pero desechadas por cuestiones metodológicas, de costes o por no presentar perfiles adecuados de sensibilidad y/o especificidad. Sin embargo, los autores, hace 3 décadas, usaban ya uno de los marcadores que mayor utilidad ha demostrado en el diagnóstico precoz de la sepsis de origen vertical: la proteína C reactiva (PCR). A día de hoy, todos los protocolos diagnósticos de sepsis neonatal precoz y tardía del mundo desarrollado incluyen a este marcador en sus evaluaciones rutinarias, por lo que se encuentra totalmente vigente. El dintel de positividad puede variar de un centro a otro y su valor se acrecienta para el diagnóstico de sepsis cuando la medición se efectúa entre las 24 y las 48 h de vida. En la actualidad se conoce que un valor de PCR elevado, de forma aislada, no es lo suficientemente específico como para asegurar el diagnóstico de sepsis, pero su elevación se ha relacionado en varios estudios con la probabilidad de presentar un hemocultivo positivo. Sin embargo, son múltiples los factores no infecciosos, tanto maternos como fetales/neonatales que pueden elevar la PCR, por lo que su valor real lo adquiere en su determinación seriada (tendencia al alza, implica mayor riesgo de sepsis vertical). Dada su relativa tardanza en elevarse y la falta de especificidad, su valoración ha de hacerse, como siempre, en consonancia con otras variables (clínicas y analíticas).

## Otras variables analíticas

Ya los autores nombran otras pruebas a tener en cuenta, insinuando su posible papel en el diagnóstico precoz de la sepsis neonatal vertical (velocidad de sedimentación globular, medición del complejo elastasa-alfa-



1-proteínasa inhibidor, fibronectina plasmática), ninguna de las cuales ha demostrado, con el devenir de los años, ninguna aplicabilidad real en la atención de estos pacientes tan singulares.

Siguiendo con el estudio de biomarcadores producto de la respuesta del hospedador, en estas tres décadas han surgido otros candidatos a ejercer algún papel en la detección de la sepsis neonatal precoz, alguno de los cuales se ha integrado en diversos protocolos diagnósticos, como es el caso de la procalcitonina. Este péptido, precursor de la calcitonina, es sintetizado en pequeñas cantidades en la glándula tiroides y las células neuroendocrinas del tejido pulmonar en situación basal, pero, en el contexto de una sepsis, su concentración sérica se dispara como consecuencia de su síntesis masiva en múltiples tejidos. Su elevación es más precoz que la de la PCR (2-4 h tras exposición a endotoxinas bacterianas) y, aunque su especificidad no es ni mucho menos del 100 %, se ha mostrado muy útil en la evaluación de neonatos con sospecha de infección bacteriana (habitualmente sintomáticos) y lactantes febriles sin foco. En el neonato puede existir una elevación precoz de procalcitonina de duración variable de forma fisiológica que varía con la edad gestacional y cronológica, y sus niveles pueden verse alterados en casos de prematuridad, corioamnionitis, hemorragia subaracnoidea, reanimación neonatal, etc.

Otros biomarcadores que se han investigado en la evaluación de la sepsis neonatal son<sup>3,4</sup>:

- Reactantes de fase aguda: alfa amiloide sérico, proteína ligadora del lipopolisacárido, lectina de unión a la manosa y hepcidina.
- Citocinas y quimiocinas: IL-6, IL-8, IL-10, RANTES, TNF-alfa, moléculas de adhesión celular, CD64, CD11b/CD18, fracciones solubles de CD14 o CD163, sTREM-1, selectinas E y L (CD62 y CD62L), ICAM-1, VCAM-1, suPAR, pentraxina 3, angiopoietinas 1 y 2, .
- Otros: Lipoproteína Apo-A, proadrenomedulina, calprotectina, proteínas del inter-alfa-inhibidor.

Aunque cada uno de estos marcadores analíticos ha mostrado su utilidad (solos o en combinación) en el diagnóstico precoz de la

sepsis neonatal de origen vertical, la tecnología que ha venido a revolucionar este campo (diferenciar entre infección bacteriana, otras infecciones y estados inflamatorios) es el conjunto de las llamadas "ómicas": *transcriptómica*, *proteómica* y *metabolómica*. En la *transcriptómica* se estudia el ARNm como muestra de la expresión génica usando microarrays, definiéndose patrones reproducibles y característicos de cada fase de la infección sistémica e incluso específicos de cada patógeno. Algunos tests diagnósticos que utilizan esta tecnología se encuentran ya en uso en determinados centros hospitalarios de países como EE. UU. En la *proteómica* se analiza, en un mismo tiempo, una combinación de péptidos sintetizados en el contexto de la sepsis, definiéndose puntajes o *scores* que ayudan a discriminar neonatos sépticos de asépticos o sanos. Algunos de ellos se han ideado para cuantificar varias proteínas relacionadas con inflamación/infección en el líquido amniótico (predictores de sepsis de origen vertical). Esas técnicas ayudarán a definir de una forma más concreta la corioamnionitis, aumentando la precisión en el diagnóstico y evitando la realización de pruebas y tratamientos innecesarios en recién nacidos hijos de madres con sospecha de infección intrauterina (en consonancia con el nuevo concepto de la triple I: inflamación/infección intrauterina). La *metabolómica* permite acercarnos al diagnóstico de la sepsis neonatal (en sus etapas incluso iniciales) mediante resonancia magnética o la espectrometría de masas, determinando concentraciones de pequeños productos del metabolismo que se elevan en situaciones de infección sistémica (en sangre y en orina). Especialmente prometedores son los recientes estudios que evalúan perfiles de metabolitos de los lípidos con la intención de diferenciar sepsis de otros estados inflamatorios. En el horizonte futuro de la metabolómica aplicada a la neonatología están las técnicas de detección de compuestos orgánicos volátiles que analizan la composición del aire espirado y lo relacionan con la presencia de sepsis (ya estudiado en animales de laboratorio)<sup>5</sup>.

## Biología molecular

Hasta ahora nos hemos centrado en biomarcadores que son producto de la respuesta inflamatoria del hospedador o consecuencia de la interacción entre este y los microorganismos causantes de la sepsis, pero existe un conjunto de técnicas de diagnóstico micro-



biológico que están llamadas a sustituir al hemocultivo, actual (aunque también obsoleto) patrón de referencia en el diagnóstico de la sepsis. Dichas técnicas podemos englobarlas dentro de la microbiología molecular y, para centrarnos en lo que nos concierne, nos referiremos sólo a aquellas que buscan la detección y amplificación del ADN bacteriano. Mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) es actualmente posible el diagnóstico de bacteriemia. Diversas técnicas de amplificación, usando PCR a tiempo real, están consiguiendo detectar la presencia de ADN bacteriano en muestras de sangre en menos de 12 horas, aumentando la sensibilidad especialmente en aquellos casos en los que se ha administrado antibióticos durante el parto<sup>5</sup>. Ciertamente es que, aunque se observa un aumento en la sensibilidad del diagnóstico, este no es demasiado significativo con la tecnología en uso actualmente (existen limitaciones favorecidas por la presencia de inhibidores de la PCR o ADN de baja calidad, por citar algunos ejemplos). El rendimiento de estas pruebas parece aumentarse cuando las muestras de sangre son incubadas previamente (llegando al 90 % de sensibilidad y 96 % de especificidad). Nuevas plataformas de diagnóstico molecular, como la PCR/ESI-MS (PCR amplification with electrospray ionization mass spectrometry) permitirán un diagnóstico rápido (en 30 minutos) de la presencia de bacterias en sangre.

### Comentario final

En sus últimos párrafos, los autores del texto que hemos comentado ponen en valor la utilización de varios medios diagnósticos simultáneamente para aumentar la sensibilidad y especificidad de las pruebas, llegando a asegurar que, con un buen uso de las técnicas diagnósticas, junto a la clínica, tratarían de forma innecesaria sólo a un 2 % de los neonatos, afirmación que, incluso en nuestros días, parece muy ambiciosa e irreal. Son muchos más los neonatos que se ven expuestos a antibióticos innecesariamente como consecuencia de alteraciones de tal o cual biomarcador. Sin embargo, en el último párrafo realizan una afirmación que cobra una importancia capital en la actualidad y que dicta el *modus operandi* de cualquier unidad neonatal contemporánea: la ausencia de alteraciones en las pruebas (hemograma, I/T, PCR) realizadas a las 24 horas de vida del recién nacido que se mantiene asintomático

prácticamente excluye el diagnóstico de sepsis vertical, por lo que permitiría la retirada de los antibióticos (si es que se han llegado a iniciar) aún sin conocerse el resultado de los hemocultivos. En la actualidad la tendencia es a no iniciar tratamiento antibiótico en estos casos, pero por otra parte, se ha de insistir en tomar la misma actitud (suspender tratamiento) cuando ha habido elevación/alteración de algún marcador, no han aparecido signos clínicos y los estudios microbiológicos a las 48 h no detectan la presencia de bacterias en la sangre. Ese es el verdadero escollo que, afortunadamente, cada día está costando menos salvar en el manejo de estos pacientes.

Como conclusión diremos que el método diagnóstico ideal de la sepsis neonatal de origen vertical en sus estadios más precoces estará próximamente disponible y seguramente combinará, la rápida medición de marcadores relacionados con la respuesta del hospedador (mediante transcriptómica, proteómica y/o metabolómica) y novedosos métodos microbiológicos de biología molecular (detección-amplificación de DNA bacteriano en menos de 12 horas).

### Bibliografía

1. World Health Organization. Ten threats to global Health on 2019. Geneva. WHO. 2019. Disponible en: <https://bit.ly/2VRA77A>
2. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Plan Nacional frente a la resistencia a los antibióticos 2019-2021. Disponible en: <https://bit.ly/34bYTDQ>
3. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: a literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Jun;31(12):1646-1659.
4. Delanghe JR, Speeckaert MM. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. *Clin Chim Acta.* 2015 Dec 7;451(Pt A):46-64.
5. Iroh Tam PY, Bendel CM. Diagnostics for neonatal sepsis: current approaches and future directions. *Pediatr Res.* 2017 Oct;82(4):574-583.