UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

NIVEL DE POSGRADO

ESPECIALIDAD DE MEDICINA INTERNA

TÍTULO:

"UTILIDAD DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) COMO BIOMARCADOR TEMPRANO PREDICTIVO DE SEPSIS EN COMPARACIÓN CON EL MARCADOR PROCALCITONINA EN LOS PACIENTES DEL NORTHOSPITAL DE LA CIUDAD DE QUITO"

Tesis de grado previo a la obtención al título de especialista en Medicina Interna

AUTOR:

Méd. José Rafael Poma Valdivieso

DIRECTORA:

Dra. Gabriela de los Ángeles Chacón Valdivieso

LOJA-ECUADOR

2014 – 2015

CERTIFICACIÓN

Loja, 31 de julio del 2015

Dra. Gabriela de los Ángeles Chacón Valdiviezo,

Docente de la Universidad Nacional de Loja y Director de Tesis, en uso de sus atribuciones

C E R T I F I C A

Que el presente trabajo investigativo titulado **"UTILIDAD DEL PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) COMO BIOMARCADOR TEMPRANO PREDICTIVO DE SEPSIS EN COMPARACIÓN CON EL MARCADOR PROCALCITONINA (PCT) EN LOS PACIENTES DEL NORTHOSPITAL DE LA CIUDAD DE QUITO ABRIL-JUNIO DEL 2014"** ha sido dirigido y revisado minuciosamente durante su desarrollo, por lo que se autoriza su presentación.

Dra. Gabriela de los Ángeles Chacón Valdiviezo

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, José Rafael Poma Valdivieso declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: José Rafael Poma Valdivieso

Firma: _____

Cédula: 1104166887

Fecha: 31 de julio del 2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, José Rafael Poma Valdivieso declaro ser autor de la tesis titulada " UTILIDAD DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) COMO BIOMARCADOR TEMPRANO PREDICTIVO DE SEPSIS EN COMPARACIÓN CON EL MARCADOR PROCALCITONINA (PCT) EN LOS PACIENTES DEL NORTHOSPITAL DE LA CIUDAD DE QUITO ABRIL - JUNIO DEL 2014", como requisito para optar al grado de Especialista en Medicina Interna; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja a los treinta y un días del mes de julio del dos mil quince.

Firma:
Autor: José Rafael Poma Valdivieso
Cédula: 1104166887
Dirección: Sector San Fernando Quito-Ecuador
Correo electrónico: rafaelpomavaldivieso@outlook.com
Teléfono: 023803566 Celular: 0994386809

DATOS COMPLEMENTARIOS:
Director de Tesis: Dra. Gabriela de los Ángeles Chacón Valdiviezo.
Tribunal de Grado: Dr. José Miguel Cobos Vivanco, Mg. Sc (Presidente)
Dr. Cristian Galarza Sánchez (Vocal)
Dra. Ximena Vásquez Cabrera (Vocal)

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a la salud pública de mi país el cual tiene por objetivo optimizar recursos dentro de lo necesario para establecer diagnósticos oportunos y precisos, además dedicarlo a todas las especialidades médicas que han hecho de la ciencia un lucro incesante y se han olvidado valores y principios de vida a cambio del dinero.

Además dedicar el siguiente trabajo a toda mi familia, quienes siempre me han apoyado a pesar de las circunstancias y de las adversidades de la vida, donde con su mano de familia hicieron que este proyecto concluya y tenga la satisfacción de haber realizado lo mejor dentro de mi superación personal y profesional.

AGRADECIMIENTO

Agradecer en primer lugar a Dios porque de él viene la sabiduría y la inteligencia, a mi familia que siempre ha estado pendiente de mi superación profesional, a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron que este estudio sea representativo ayudando con su contingente, críticas constructivas y apoyo incondicional sobre todo, por la motivación para que el desarrollo y resultados sean eficientes y de servicio a la salud.

1. TÍTULO:

“UTILIDAD DELA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) COMO BIOMARCADOR TEMPRANO PREDICTIVO DE SEPSIS EN COMPARACIÓN CON EL MARCADOR PROCALCITONINA EN LOS PACIENTES DEL NORTHOSPITAL DE LA CIUDAD DE QUITO”

2. RESUMEN

El presente estudio realizado en al año 2014 se planteó la determinación de la proteína C reactiva como biomarcador predictivo de sepsis en comparación con la procalcitonina; se tomaron pacientes con criterios de sepsis y se comparó utilizando la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para determinar un punto de corte de la proteína C reactiva en todos los pacientes con criterios de sepsis y con procalcitonina que indique sepsis; en la estadística se expone que los puntos de corte óptimos obtenidos a partir de la curva ROC, para la proteína C reactiva se pudieron evaluar dos puntos significativos 97 mg/L presenta una sensibilidad de 58 %, especificidad del 57 %, valor predictivo positivo 48 % y valor predictivo negativo 66 % y 181 mg/L presenta una sensibilidad de 31% y especificidad del 78%, valor predictivo positivo 50% y valor predictivo negativo 62%. Además se demostró mediante el valor de P (0.008) en el estudio realizado que la proteína C reactiva no es estadísticamente significativa en comparación con la procalcitonina para predictor temprano de sepsis. En conclusión la procalcitonina continúa siendo el mejor biomarcador para diagnóstico de sepsis, siendo la proteína C reactiva un biomarcador de inflamación, que no iguala a la procalcitonina en el diagnóstico de sepsis.

2. SUMMARY

In this study performed in the year 2014, it was proposed to determine the CRP as a predictive biomarker for sepsis compared with procalcitonina; patients with sepsis criteria were taken and compared using the ROC curve (Receiver Operating Characteristic) to determine a cohort point of CRP in all patients with sepsis criteria and PCT indicating sepsis. In statistical, it was exposed that the cohort points obtained from the ROC curve, in the PCR it could be evaluated significant points 97 mg/L has a sensitivity of 58%, specificity of 57%, VPP 48 % and VPN 66 % and 181 mg/L has a sensitivity of 31%, and specificity of 78%, VPP 50% and VPN 62%. That is, the Procalcitonin is still the best biomarker for sepsis diagnosis, being PCR a biomarker of inflammation, which does not equal the PCT in diagnosing sepsis.

3. INTRODUCCIÓN

Como lo señalan Chan Y, Tseng C, Tsay P, Chan S, Chiu T. en un estudio observacional: Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: 2004, el marcador biológico perfecto de infección bacteriana sería aquel lo suficientemente sensible para detectar la presencia de infección en pacientes con mínima e incluso sin respuesta, lo suficientemente específico para discriminar infección de otros estímulos que pueden inducir síndrome de respuesta inflamatoria (SIRS), debería aparecer de forma temprana en el curso de la infección, debería ser de bajo costo, accesible para todas las unidades de salud, y, que se pudiera medir de forma rápida y debería tener un significado pronóstico.

Desde hace varios años a tras se vienen utilizando varios métodos en la detección y seguimiento de procesos infecciosos, así como la utilización de parámetros clínicos y analíticos tales como los criterios de SIRS (Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica) y SEPSIS, más hoy en la actualidad se tiene en los centros de mayor complejidad marcadores específicos de inflamación y de pronóstico de sepsis con lo cual se sustenta aún mejor el diagnostico de infección o inflamación de ser el caso, además del monitoreo de la respuesta clínica del paciente ante la antibioticoterapia.

Es así que en el presente estudio se analizó dos Biomarcadores utilizados internacionalmente para diferenciar un proceso infeccioso de uno inflamatorio como son la Procalcitonina y la PCR (Proteína C Reactiva),respectivamente; en dicho estudio se intenta establecer un punto de corte en el cual la proteína c reactiva se ha utilizado como marcador pronóstico de Sepsis, ya que no en todos los unidades de salud al menos de nuestro país se cuenta con reactivo para

realizar Procalcitonina por su costo y la disponibilidad de las casas que comercian dicho producto.

En este estudio se tomó como muestra a 63 pacientes de los cuales se realizó el punto de corte de la proteína c reactiva en comparación con aquellos pacientes con SEPSIS y Procalcitonina > de 2 ng/ml, de tal manera que se obtuvo la sensibilidad y especificidad del proteína c reactiva y procalcitonina para el diagnóstico de SEPSIS.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

CAPÍTULO 1

1.1 BIOMARCADORES COMO RESPUESTA DEL HUÉSPED

Un marcador ideal de infección y sepsis debería acortar el tiempo para el diagnóstico, facilitar la distinción entre inflamación de origen infeccioso y no infeccioso y reflejar la efectividad del tratamiento.

1.2 UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES

La respuesta de fase aguda comprende las reacciones fisiológicas y bioquímicas que tienen los animales endotérmicos frente a la mayoría de las formas de daño tisular, infección, inflamación y neoplasias malignas.

La síntesis de estas proteínas tiene lugar, fundamentalmente, en los hepatocitos, bajo el control de citocinas originadas en el lugar de la lesión.

Son proteínas que varían su concentración en un 25% ó más durante ciertos procesos inflamatorios. En base a su síntesis se pueden considerar dos tipos:

Las de clase 1, que son inducidas por interleuquina 1 e interleuquina 6 y las de clase 2, inducidas únicamente por interleuquina 6.

1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMARCADORES

Estas proteínas se clasifican en:

Positivas las que aumentan su síntesis como consecuencia del proceso inflamatorio. Por ejemplo, proteína C reactiva, procalcitonina, sustancia A amiloide, fibrinógeno, haptoglobina, α1- glicoproteína ácida, C3, C4.

Negativas las que su síntesis está inhibida. Por ejemplo, albúmina, prealbúmina, transferrina, proteína transportadora del retinol.

Madoff L, Kasper D. Consideraciones básicas. Introducción a las enfermedades infecciosas: Interacciones entre el hospedador y el parásito. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 905-919.

1.3.1 PROTEÍNA C REACTIVA (PCR).

También forma parte de la familia de las pentraxinas y, al igual que el amiloide P, es producida en el hígado, en respuesta a la IL-6 y, en menor medida, a la IL-8. A pesar de ser la primera proteína de fase aguda descrita, sus funciones no están completamente clarificadas, aunque si se conoce que tiene propiedades pro y antiinflamatorias. Tiene una gran afinidad por los radicales fosfocolina y, por ello, es capaz de fijarse a estructuras microbianas, como glicanos y fosfolípidos, pero también a células autólogas dañadas y apoptóticas. Una vez unida a sus ligandos, la protina c reactiva es reconocida por la fracción C1q del complemento, activándose la vía clásica de este sistema, promoviéndose la quimiotaxis y la fagocitosis. En adultos sanos, la concentración media de proteína C reactiva es de 0,8 mg/L, con un percentil 90 de 3 mg/L. Tras un estímulo simple se sintetiza muy rápidamente, con concentraciones mayores de 5 mg/L a las 6 horas, alcanzando el pico a las 48 horas y con regreso a la normalidad una vez finalizado el proceso inflamatorio agudo. Su vida media en el plasma es de aproximadamente 19 horas y sus niveles únicamente dependen de la tasa de síntesis, reflejando la intensidad del proceso patológico que estimuló su producción. Debido a estas características, la proteína C reactiva es un marcador inespecífico de inflamación muy útil en la clínica, ya que puede contribuir al cribado de enfermedades orgánicas, a la valoración de la gravedad de un proceso inflamatorio, a la monitorización de la respuesta al tratamiento de una infección o proceso inflamatorio y a la detección de infección intercurrente en pacientes inmunodeprimidos.

La proteína C reactiva ha sido considerada como un marcador de moderada fiabilidad como predictor de enfermedad coronaria. También parece ser un buen predictor de mal pronóstico en cáncer pancreático, cáncer de colon y carcinoma hepatocelular y su utilidad ha sido bien establecida para la valoración de la gravedad en la pancreatitis aguda.

Madoff L, Kasper D. Consideraciones básicas. Introducción a las enfermedades infecciosas: Interacciones entre el hospedador y el parásito. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 905-919.

Valores de PCR

Elevación leve (<1 mg/dl)	Elevación moderada (1-10 mg/dl)	Elevación notable (>10 mg/dl)
Ejercicio intenso IVRS, gingivitis Embarazo Crisis convulsivas Resistencia a la insulina Obesidad	Infarto agudo al miocardio Neoplasias malignas Pancreatitis Infección de mucosas Enfermedades del colágeno	Infección bacteriana Trauma severo Vasculitis sistémica

Fuente: http://slideplayer.es/slide/119952/

1.3.2 PROCALCITONINA

La procalcitonina es el propéptido de la hormona calcitonina (ct) que en condiciones normales se sintetiza en las células c del tiroides y que tiene actividad calcitonina-like.

Se sintetiza a partir de la preprocalcitonina, que por una secuencia señal sufre un por una endopeptidasa específica en el extremo amino terminal, dando lugar a la procalcitonina. Es una glicoproteína plasmática de 116 aminoácidos con una masa molecular de 13-14 kd. Tras la síntesis de la procalcitonina, una proteasa específica la fracciona en tres fragmentos: la calcitonina inmadura de 32 aminoácidos (zona intermedia: 60-91), un fragmento amino-terminal de 57 aminoácidos (1-57) y un fragmento carboxilo-terminal.

En condiciones normales la procalcitonina sufre un proteolítico a nivel del retículo endoplasmático que da lugar a la calcitonina inmadura, sin embargo en procesos infecciosos este no tiene lugar, y conlleva un aumento de los precursores de la calcitonina. En sujetos sanos la concentración de procalcitonina sérica es indetectable mientras que se eleva marcadamente (mayor de 100 ng/ml) en distintas situaciones. Es interesante destacar que la sobreproducción de esta glicoproteína durante estos procesos patológicos tiene lugar en tejidos

extratiroideos y no conlleva un aumento de la calcitonina ni del calcio en el suero. Esto apunta a que las células que sintetizan procalcitonina en estas condiciones carecen de la enzima proteolítica que da lugar a la calcitonina madura.

En algunos paciente graves es frecuente encontrar una hipocalcemia que es inversamente proporcional a la concentración de procalcitonina pero se ha demostrado que la concentración disminuida de calcio no es debido a la concentración de procalcitonina y se piensa que es por la respuesta inflamatoria en sí misma.

El origen de la procalcitonina en estas circunstancias patológicas es incierto. Unos autores barajan la hipótesis de que se sintetiza en el hígado, estudios experimentales de incubación de células hepáticas con el tnf-α y la il-6 producen un incremento de la procalcitonina, de manera que es posible que el tejido hepático isquémico *per se* promueva la liberación de la procalcitonina. Otros estudios han encontrado que el lipopolisacárido bacteriano es capaz de inducir el RNAm de la procalcitonina y estimular la síntesis intracelular de la misma en cultivos de células mononucleares de sangre periférica, aunque también se conocen trabajos en los que no se ha encontrado dicha actividad en los leucocitos mononucleares y se ha observado un aumento de procalcitonina en pacientes leucopénicos. Paralelamente otros autores proponen las células neuroendocrinas del pulmón como lugar de producción, ya que se ha detectado procalcitonina en homogenados de células dms 53 y dms 79 (líneas celulares derivadas de carcinoma de pulmón de células pequeñas).

Parece cierto que su síntesis no se produce en la glándula tiroidea bajo condiciones sépticas, ya que se ha comprobado que esta proteína está aumentada en pacientes tiroidectomizados y la expresión del gen cal-i en las células de múltiples tejidos (plasma, hígado, pulmón, páncreas…). Se ha demostrado que tras la inyección de endotoxina los niveles de procalcitonina se elevan y que la vida de los animales de experimentación aumenta tras la inyección de anticuerpos antiprocalcitonina, y que cuando se administra a ratones

sanos estos no desarrollan sepsis, de manera que la procalcitonina es además de marcador un mediador en la reacción inflamatoria sistémica sin ser activador de dicha reacción. Sin embargo se desconoce su papel en la cascada de la reacción inflamatoria y su relación con la citocinas, pero se ha demostrado que la procalcitonina no modula la síntesis de las citocinas, de la misma forma que no incrementa la expresión de receptores inflamatorios (CD-14, CD-64, CD-80…) en la superficie celular, hechos que apuntan a la nula o escasa participación de la procalcitonina en la respuesta primaria a la infección. Además confirman esta afirmación el hecho que el aumento de la procalcitonina siempre está precedido por un aumento de la IL-1β y del TNF-α, y que la administración de procalcitonina en animales de experimentación sanos no se acompaña de un aumento de la mortalidad, debido posiblemente a la incapacidad de activar la cascada inflamatoria. De todas formas parece ser que la procalcitonina disminuye la síntesis de NO en una primera fase, es decir la concentración de procalcitonina que aumentaría a las 2 horas del comienzo del estímulo en una primera fase influiría en la expresión del gen de la iNOs inhibiendo la síntesis de NO (normalmente a las diez horas del comienzo del estímulo) y mejorando así la hipotensión severa que acompaña a la sepsis y al shock séptico, mientras que cuando se alcanza una concentración de procalcitonina muy elevada (mayor de 1.000 ng/mL) esta inhibición no tiene lugar, proponiendo un comportamiento bifásico de la procalcitonina respecto al NO.

También se ha observado una inhibición de la síntesis del tromboxano y del ácido araquidónico inducido por PG134.

Se cree que la procalcitonina que aumenta en suero en los procesos infecciosos no es la procalcitonina de 116 aminoácidos sino que es la denominada “forma truncada” de la misma. Esta molécula carece del dipéptido alanina-prolina inicial en el extremo amino terminal, y parece ser que la enzima responsable de este es la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV).Este enzima es una glicoproteína de 110 aminoácidos que cataliza la liberación de dipéptidos en el

Madoff L, Kasper D. Consideraciones básicas. Introducción a las enfermedades infecciosas: Interacciones entre el hospedador y el parásito. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 905-919.

extremo amino-terminal y de oligopéptidos y polipéptidos preferentemente que contienen prolina, hidroxiprolina, y con menor eficacia los que contienen alanina en la penúltima posición. Es un tipo de enzima de membrana que tiene un dominio catalítico orientado extracelularmente con alta especificidad y que se localiza en células endoteliales y epiteliales (sobre todo en riñón, hígado e intestino), células hematopoyéticas (células T, células B y NK activadas) y disuelto en plasma (es idéntica al marcador CD-26 de activación de células T). En los pacientes sépticos también aumenta el péptido amino terminal de la procalcitonina, que se correlaciona con los niveles de procalcitonina y permanece más tiempo aumentado debido a que su vida media es más larga, además su método de determinación tiene alta sensibilidad.

Existe una discrepancia respecto a qué es lo que estimula el aumento de procalcitonina en pacientes infectados. Unos autores apuestan por el LPS de la bacteria como estimulador de la expresión del RNAm de la procalcitonina, que a su vez es un potente activador de la DP-IV y de las células B, T y NK, al igual que la fitohemaglutinina y varias citosinas proinflamatorias (IL-1β, IL-6, TNF-α e IL-2). Mientras que otros piensan en la endotoxina bacteriana como factor desencadenante del aumento de procalcitonina en estos pacientes. Incluso se piensa que las citocinas en sí mismas son capaces de liberar procalcitonina en ausencia de endotoxina.

Otras características importantes de la procalcitonina es su aumento significativo precoz (a las 2-6 horas del comienzo del estímulo) alcanzando la concentración máxima a las 12 horas, su corto tiempo de vida media de 25-30 horas, se elimina por hemodiálisis, su gran estabilidad incluso a temperatura ambiente (soporta congelaciones descongelaciones sucesivas), su especificidad y su sensibilidad para el diagnóstico de infección bacteriana.

La procalcitonina sérica aumenta manteniendo los niveles basales de calcitonina en distintas situaciones de elevada relevancia clínica como son las siguientes:

La procalcitonina aumenta con niveles de calcitonina elevados en el carcinoma medular de tiroides, en el carcinoma pulmonar de células pequeñas, y en otros carcinomas como el de ovario, mama, islotes pancreáticos.

Los pacientes con una enfermedad autoinmune son susceptibles de contraer una infección debido a la propia enfermedad que padecen y al tratamiento que reciben y en muchas ocasiones es difícil discernir entre un brote de la enfermedad y una infección. Existen múltiples estudios en los que se valoran distintos marcadores como la procalcitonina y la proteína C reactiva, la neopterina y la IL-6 en pacientes con lupus eritematoso sistémico y con Ac citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) asociados a vasculitis sin infección y con infección bacteriana y se obtienen resultados con una sensibilidad de 100 % y una especificidad del 84 % de la procalcitonina frente a una especificidad de la neopterina, la IL-6 y la PCR de menos del 15 %. Pese a todo se propone como punto de para pacientes con ANCA 1 ng/mL en vez de 0,5 ng/mL y es importante destacar que la Procalcitonina no sirve para detectar una infección vírica en este tipo de pacientes incluso se han descrito casos clínicos en los que los valores de la procalcitonina están dentro de la normalidad con infección fúngica demostrada microbiológicamente.

En base a la presencia de fiebre en pacientes con enfermedad autoinmune sistémica para diferenciar pacientes infectados frente no infectados se obtiene un valor medio de la procalcitonina de 1,11 ng/mL versus 0,24 ng/mL con una sensibilidad de 75 % y una especificidad del 75 % frente a la proteína C reactiva, WBC y VSG en las que no se observan diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, se observa un aumento de los valores de la procalcitonina en pacientes adultos no infectados que debutan con una enfermedad de Still.

En pacientes quemados las complicaciones más frecuentes son una respuesta inflamatoria sistémica y una depresión de la inmunidad celular y las causas más comunes de mortalidad son un fallo respiratorio y la infección. La concentración de procalcitonina en la fase aguda está fuera de los rangos de

normalidad y no existen diferencias significativas entre los pacientes sépticos y los no sépticos, sin embargo, los niveles de procalcitonina disminuyen en los pacientes no infectados, así como en los que reciben un tratamiento adecuado, mientras que en otros marcadores de infección no existen diferencias significativas hasta el día 12-15, como la PCR, los WBC o la temperatura.

La pancreatitis aguda se define como un proceso inflamatorio agudo del páncreas que afecta a los tejidos adyacentes y en la que existe una respuesta sistémica. Se describen aproximadamente unos 30 casos cada 100.000 habitantes al año con una mortalidad entre el 10-15 %, y de los que evolucionan a una pancreatitis aguda necrotizante entre el 20-30 % es de origen infeccioso. Unos autores presentan a la proteína C reactiva como la más específica, barata y fácil de medir cuando se realiza la prueba a las 48 horas del inicio de los síntomas, presentando una sensibilidad del 60,9 % y una especificidad del 89,1 % con un punto de mayor de 200 mg/L, frente a la procalcitonina de 21,7 % y 83,2 % respectivamente, mientras que otros autores describen a la procalcitonina o a la il-6 como mejor marcador de estos aspectos presentando la procalcitonina una sensibilidad del 92 %, una especificidad del 84% con un punto de de 3 ng/ml a las 24 horas del comienzo de los síntomas. es más, si se realiza una combinación de il-6 < 400 ng/ml y procalcitonina<2 ng/mL se obtiene una sensibilidad del 75 % y una especificidad del 84 % para el diagnóstico de pancreatitis aguda necrotizante no infectada.

Respecto a infecciones y complicaciones posteriores (fallo respiratorio y/o renal) los trabajos apuntan como mejor marcador a la procalcitonina realizada esta prueba a las 12-24 horas de la admisión con una sensibilidad del 86 %, una especificidad del 89 %.

En pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) la concentración basal de procalcitonina es similar a sujetos sanos y sus niveles aumentan cuando existe una sobreinfección de origen bacteriano y no en otras infecciones frecuentes en este tipo de pacientes como son la toxoplasmosis,

infecciones fúngicas, tuberculosis o citomegalovirus (CMV), además la monitorización de la procalcitonina permite conocer la bondad del tratamiento.

Existen estudios en los que se ha encontrado una concentración de procalcitonina aumentada en pacientes VIH positivos con tuberculosis pero estableciendo un punto de 3 ng/mL es capaz de diferenciar una neumonía de una tuberculosis con una sensibilidad del 81,8 %, una especificidad de 82,4 % y proteína C reactiva (punto de 246 mg/L) de 78,8 %, 82,3 % respectivamente. Además se piensa que el aumento de procalcitonina en estos pacientes es indicativo de la progresión de la infección por el VIH y de la severidad de la infección contraída.

En pacientes oncológicos tras tratamiento con quimioterapia es frecuente la aparición de fiebre pero en ocasiones es difícil conocer la causa de la misma, ya que puede ser debido a una infección o a la administración de medicamentos o hemoderivados. Es importante destacar que estos pacientes debido al tratamiento suelen padecer neutropenia, por tanto un marcador precoz de infección disminuiría la morbi/mortalidad de complicaciones posteriores, evitando antibioticoterapia innecesaria. Además desde el primer día de la aparición de la fiebre existe una diferencia entre la concentración de la procalcitonina de un paciente con bacteriemia (media 12,37 ng/mL) y la de un paciente con una infección localizada (media 1,29 ng/mL), de manera que aparece como un marcador independiente del estado inmune y del contaje de leucocitos.

Sin embargo, otros autores presentan a la procalcitonina como un marcador muy específico (100 %) pero poco sensible (60 %) para discernir entre una FOD y pacientes infectados, mientras que en la PCR no existen diferencias significativas entre ambos grupos y los valores para la IL-8 y la IL-6 son menores.

En Pacientes con neumonía algunos autores proponen a la procalcitonina como marcador de neumonía en las fases iniciales de la enfermedad capaz de discernir entre una neumonía de origen vírico y de origen bacteriano con baja sensibilidad (50 %) pero alta especificidad (80 %) frente a un 31 % de sensibilidad

Martínez JA, Mensa Pueyo J. Problemas especiales en enfermedades infecciosas.
Madoff L, Kasper D. Consideraciones básicas. Introducción a las enfermedades infecciosas: Interacciones entre el hospedador y el parásito. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2006: 905-919.

de la proteína C reactiva. los pacientes con una neumonía bacteriana además de tener unos niveles de procalcitonina más elevados que los pacientes con neumonía vírica, niveles que se alcanzan antes que la PCR, tras un tratamiento adecuado estas concentraciones retornan a valores de normalidad antes que la PCR y se puede utilizar como marcador de gravedad y pronóstico de la enfermedad. Además se calcula que en la infección del tracto respiratorio inferior se pautan alrededor del 39 % de antibióticos innecesariamente y con la medición de la procalcitonina este porcentaje disminuiría, es decir se plantea como un marcador diagnóstico y pronóstico de infección del tracto respiratorio inferior.

Sin embargo, otros autores defienden que esta proteína no aumenta en las neumonías bacterianas atípicas y que a pesar de ser un marcador precoz de la evolución de la enfermedad respiratoria y tener unos niveles más elevados en la neumonía bacteriana no es posible establecer la utilidad diagnóstica ni pronóstica de la misma.

En el síndrome del distrés respiratorio agudo distingue la causa infecciosa de la no infecciosa con una sensibilidad y especificidad del 80 % en la fase temprana de la enfermedad antes incluso del aislamiento de la bacteria y de que el diagnóstico de sepsis se haya realizado y se mantiene en esos niveles hasta las 72 horas. Además no existe un solapamiento entre ambos grupos de pacientes (infecciosos versus no infecciosos), mientras que otros marcadores habituales como la PCR o la IL-6 no presentan valores discriminantes y se observa un solapamiento en sus concentraciones. De manera que la concentración de la procalcitonina elevada es sugestiva de tratamiento antibiótico, al mismo tiempo que su monitorización permite conocer la bondad de la pauta antibiótica.

La meningitis es una enfermedad en la que es importante realizar un diagnóstico precoz para comenzar un tratamiento adecuado y controlar así la infección, debido a que las consecuencias de esta enfermedad pueden ser fatales. En ocasiones el diagnóstico en los primeros estadios de la enfermedad

Selberg,O MD; Hecker,S PhD; Martin, M. PhD; Klos,A MD; Bautsch, W. MD, PhD; Köhl, J. MD. Discrimination of sepsis and systemic inflamatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrtions of procalcitonin, protein complement 3ª, and interleukin-6.CritCareMed 2000; 28, 8, 2793-2798

es difícil por la falta de especificidad de los marcadores habituales (PCR y WBC) y porque el cultivo sanguíneo y de líquido cefalorraquídeo (LCR) y la reacción en cadena de la polimerasa son pruebas tardías (el cultivo bacteriano 2 días y el vírico 3-8 días).

En pacientes con meningitis unos autores presentan a la procalcitonina, utilizando como punto de 0,5 ng/mL, como el marcador más sensible (69 %) y más específico (100 %) para diagnosticar una meningitis bacteriana versus vírica en adultos. Otros autores cuando eligen un punto de 0,2 ng/mL obtienen resultados con sensibilidad y especificidad parecidas (95,6 %, 80,4 %, respectivamente) frente a los marcadores habituales de diagnóstico como los PMN, la PCR y el ratio de glucosa LCR/suero y proteínas en los que existe un solapamiento entre meningitis vírica y bacteriana, y apuntan la ausencia de procalcitonina en LCR, a pesar de que otros autores detectan niveles de procalcitonina en LCR.

En pacientes con sepsis, autores proponen que la concentración de procalcitonina es proporcional a la extensión del tejido dañado y a la hipovolemia del paciente de manera que es también un indicador de la severidad en un shock hipovolémico. Es importante destacar que debido a las diferencias en el metabolismo cinético de la procalcitonina y la PCR, la primera disminuye su concentración o retorna a valores de normalidad a las 24-48 horas de la resolución de la enfermedad mientras que la segunda puede permanecer aumentada hasta dos semanas. Además se ha comprobado que la concentración de procalcitonina puede tener un valor en la evolución y pronóstico en estos pacientes tanto en una resolución positiva de la enfermedad como en el desarrollo de un fracaso multiorgánico y mortalidad. Es importante destacar que un aumento de la procalcitonina no indica la etiología microbiológica de la infección pero si es indicativa del origen bacteriano de la misma y que este aumento tiene lugar previo a las complicaciones clínicas de la infección.

Becker KL, Nylén ES, White JC, Müller B, Snider RH. Procalcitonin and the Calcitonin Gene Family of Peptides in Inflammation, Infection and Sepsis: A Journey from Calcitonin Back to Its Precursors. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2004; 89: 1512-25

Otra aplicación importante en los pacientes ingresados en la uci es que el éxito del tratamiento antibiótico y de una intervención quirúrgica se puede monitorizar con los niveles de procalcitonina. De esta manera se puede conocer el momento idóneo de la retirada del fármaco, evitando el abuso y por tanto disminuyendo las posibles resistencias, los efectos adversos de una terapia antibiótica y los costes. Así, la procalcitonina junto con la elastasa-α1-antitripsina son los mejores marcadores para comenzar una pauta antibiótica a pesar de que reciben tratamiento un 23 % de pacientes más del necesario y no reciben tratamiento un 16 % de los mismos.

Constituyen productos finales de la cascada inflamatoria, sin una función claramente definida. Entre las proteínas de fase aguda se encuentran el:

- Amiloide A y P
- Albúmina sérica
- Proteína C reactiva
- Leptina
- Proteína fijadora de lipopolisacáridos y el,
- Complemento.

Albúmina. La albúmina puede ser considerada como una proteína de fase aguda negativa, ya que sus niveles descienden en los procesos inflamatorios. Su utilidad para el diagnóstico está limitada, ya que sus niveles están muy influenciados por los cambios del volumen extracelular.

1.3.3 COMPLEMENTO.

Es un sistema de enzimas plasmáticas, constituido por al menos 30 proteínas que proporciona una amplificación de la respuesta a un estímulo por medio de una cascada de reacciones, en la que cada componente activado activa al

siguiente. Es un componente clave de la inmunidad innata y protege al paciente contra los microorganismos. Puede activarse a través de tres vías: la clásica, la alternativa y la vía de las lectinas. El complemento no sólo está involucrado en la infección, también se activa en varias enfermedades no infecciosas, como la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple, la glomerulonefritis y el asma. En la clínica, los niveles elevados de C3a y C3b pueden ayudar a diferenciar entre sepsis y SIRS y contribuir a predecir el resultado.

1.3.4 DERIVADOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO:

Leucotrienos, producidos por mastocitos y macrófagos; el factor de activación de plaquetas (PAF), liberado por mastocitos, neutrófilos y eosinófilos; el tromboxano A2, producido por las plaquetas; y las prostaglandinas, producidas por la mayor parte de las células endoteliales.

1.3.5 MOLÉCULAS DE ADHESIÓN

Son moléculas esenciales para la organización estructural de los tejidos y hay cuatro tipos: caderinas, integrinas, selectinas y la superfamilia de las inmunoglobulinas. Sus niveles en plasma aumentan en enfermedades críticas, sobre todo, cuando se produce fallo orgánico. Los niveles de la selectina E están elevados en pacientes con sepsis severa y se correlacionan con el desarrollo de fallo multiorgánico.

1.3.6 CITOCINAS

Las citocinas son glucoproteinas liberadas por macrófagos, monocitos, células endoteliales y linfocitos que son activados por estímulos infecciosos y no infecciosos, como la cirugía y enfermedades autoinmunes. Su vida media es muy corta, por lo que, en ausencia de estímulo, sus niveles en plasma se reducen rápidamente. Las citocinas más importantes que están involucradas en el proceso de la sepsis son: TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8 e IL-10

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis.

1.3.7 FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es una citocina multifuncional sintetizada y liberada por las células del músculo liso de la pared vascular, las plaquetas, los leucocitos y los macrófagos. Desarrolla un papel muy importante en el control de la permeabilidad microvascular y de la angiogénesis. Sus niveles están aumentados en el shock séptico y parecen correlacionarse con la gravedad de la enfermedad

Selberg,O MD; Hecker,S PhD; Martin, M. PhD; Klos,A MD; Bautsch, W. MD, PhD; Köhl, J. MD. Discrimination of sepsis and systemic inflamatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrtions of procalcitonin, protein complement 3ª, and interleukin-6. Crit Care Med 2000; 28, 8, 2793-2798

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis.

CAPÍTULO 2

2.1 INFECCIÓN Y SEPSIS

2.1.1 INFECCIÓN

2.1.1.1 FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN

En condiciones normales existe un equilibrio entre la interacción huésped-microorganismos de la piel, de las mucosas o del aire. Cuando se rompe este equilibrio se produce la infección, y por tanto la señal de activación de reacciones cuya función es restaurar la normalidad. Numerosos factores del huésped pueden influir en la posibilidad de adquirir una enfermedad infecciosa. Así, la edad (infancia y senectud) es reconocida como una de los principales factores de riesgo en la patología infecciosa. En situaciones carenciales, inmunodeficiencias, procesos patológicos no infecciosos subyacentes, gestación, intervenciones quirúrgicas y el estado emocional entre otros, predisponen al desequilibrio huésped-microorganismo culminando con la evidencia clínica de infección.

Se define la infección como toda proliferación de un microorganismo en un epitelio o en el seno de un tejido que activa una serie de mecanismos en cadena que liberan sustancias al torrente sanguíneo y que se denomina Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS). Esta reacción de fase aguda puede producirse también en patologías no infecciosas como traumatismos, lesiones de reperfusión, pancreatitis, quemaduras graves, cirugía, etc.

Cuando un microorganismo supera las barreras naturales de defensa se produce una respuesta inflamatoria que activa el sistema inmune del huésped, y en ocasiones es esta respuesta la responsable de la muerte. Unos autores defienden la teoría de una respuesta a la infección y el daño es producido por una inflamación descontrolada, mientras que otros opinan que el organismo activa mecanismos de defensa antiinflamatorios. Sin embargo, ambos coinciden que la activación de células inmunes y citocinas tienen un papel importante en la

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis.

respuesta inflamatoria y que un bloqueo de estos mediadores conlleva un peor pronóstico, es decir se debe de mantener un equilibrio homeostásico, que sea capaz de iniciar la inflamación y de evitar una respuesta exacerbada.

Además existen diversos factores genéticos, como los polimorfismos en los genes de las citocinas, que podrían determinar la concentración de citosinas inflamatorias y/o antiinflamatorias que se sintetizan frente a la infección, de manera que el riesgo de muerte de un paciente con sepsis podría estar relacionado con el polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral (TNF) alfa y beta del paciente.

También se han descrito polimorfismos genéticos en los receptores Toll, en el antígeno CD-14, en la lectina fijadora de manosa.

Otro factor importante a tener en cuenta es la diferente respuesta frente a la infección de un individuo en función de la edad, debido a que existe una diferenciación distinta de linfocitos T, un cambio de los receptores de los linfocitos B y una disminución de la generación de memoria inmunológica

2.1.1.2 RECONOCIMIENTO DEL AGENTE PATÓGENO. ACTIVACIÓN DE LA CASCADA DE REACCIONES

Cuando un agente extraño entra en el organismo comienza a funcionar el sistema inmunitario del huésped. Existen dos tipos de respuesta inmune:

2.1.1.3. Inmunidad natural, también se le denomina nativa o innata. Son los mecanismos que posee el individuo antes de estar en contacto con el agente patógeno. Es la respuesta más rápida y no específica frente a la infección. Forman parte de esta respuesta las barreras físicas, las células fagocíticas, los eosinófilos de sangre y tejidos, los linfocitos Natural Killer (NK) y algunas moléculas transportadoras de la sangre. El sistema retículo endotelial, que está formado por células fagocitarias derivadas de los monocitos que se localizan en el hígado (células de Kupffer), en los pulmones (macrófagos alveolares), en el

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis. Phua J, Koay ES. Lee KH. Lactate, procalcitonin, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide versus cytokine measurements and clinical severity scores for prognostication in septic shock. Shock 2008; 29:328-333.

bazo, en los riñones, en el encéfalo y en los ganglios linfáticos, también elimina los microorganismos circulantes.

El epitelio de la piel y de las mucosas actúan como barrera física frente al microorganismo patógeno y poseen péptidos con actividad antimicrobiana (β-defensina en la mucosa de las células epiteliales de la mucosa intestinal y nasal, en queratinocitos), además se ha comprobado que estas defensinas intervienen modulando la respuesta inmune, ya que intervienen en la síntesis de las IL y algunas actúan como quimioreactantes.

En los últimos años se ha descubierto que los monocitos circulantes, macrófagos, células epiteliales y otras células fagocíticas expresan una familia de receptores, similar al receptor de Drosophila, que se les ha denominado Toll (TLR). Estos receptores median a través de la unión a las estructuras conservadas de los microorganismos (no es una unión antígeno específico) con mediadores intracitoplasmáticos de transcripción para desencadenar la respuesta inmune. Existen en humanos, por lo menos 10 TLR con un amplio abanico de unión a estructuras microbianas, como al lipopolisacárido (LPS) (Gram negativas), lipoproteínas bacterianas (Gram positivas), ácidos lipoteicoicos (Gram positivas), peptidoglicano (PG) de la pared bacteriana, componentes de la pared de levaduras y micobacterias, dinucleótidos no metilados del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano y ácido ribonucleico (ARN) viral.

La señal tiene lugar a través de un mecanismo en el que se produce una translocación del factor nuclear κB (NF-κB). Este es un factor de transcripción que activa los promotores de los genes de gran cantidad de citocinas y de otras moléculas proinflamatorias como el TNF-α, la IL-1, la IL-6 y la IL-8.

Se ha demostrado que una deficiencia en estos receptores conlleva una mayor colonización bacteriana debido a que son capaces de controlar la replicación bacteriana aumentando los niveles de lipocalina-2 (TLR-4), incluso su déficit provoca una mayor susceptibilidad frente a radiaciones, así como su

estimulación produce una respuesta inmune descontrolada que puede desencadenar enfermedades autoinmunes incluso shock séptico y que polimorfismos genéticos de los TLR contribuye a la patogénesis de la enfermedad.

En la respuesta inmune innata también hay que nombrar al receptor nuclear hepático X (LXR) que tiene actividad antinflamatoria (posee capacidad de regulación de expresión génica de proteínas proinflamatorias) y favorece la supervivencia de los macrófagos frente a una infección bacteriana evitando la apoptosis (manteniendo la integridad y la función mitocondrial), es decir esta familia de receptores regula la magnitud, duración y características de la respuesta inmune.

2.1.1.4 Inmunidad específica o adquirida. Son los mecanismos de defensa inducidos del huésped por contacto con las sustancias extrañas. Son específicos y aumentan en magnitud y capacidad defensiva con cada exposición al agente patógeno. Las sustancias que inducen una inmunidad específica se denominan antígenos (Ag).

La inmunidad específica se clasifica en dos tipos en función de los componentes que intervienen en la respuesta:

2.1.1.5 Inmunidad humoral. Está mediada por moléculas circulantes en la sangre responsables del reconocimiento específico y de la eliminación de Ag denominados anticuerpos (Ac). Actúa sobre patógenos *extracelulares* (sobre todo bacterias encapsuladas). Los Ac son glucoproteínas complejas (inmunoglobulinas-Ig) producidos por los linfocitos B maduros, que se localizan en los líquidos orgánicos (IgG, IgM, IgE) o que se secretan a la superficie de las mucosas (IgA). Pueden actuar directamente, impidiendo la función del patógeno, neutralizando las toxinas y enzimas secretadas, o facilitando la eliminación del antígeno a través de células fagocíticas. Estimulan la función de citotoxicidad

dependiente de Ac en determinados linfocitos T, favorecen el depósito de componentes del complemento sobre la superficie del patógeno (sistema del complemento-Co) y aumentan la fagocitosis por los neutrófilos y los fagocitos mononucleares sanguíneos. La actividad fagocítica de los macrófagos y leucocitos polimorfonucleares (PMN) es más eficaz cuando los patógenos son opsonizados previamente por el Co (por ejemplo, C3b) o por Ac o ambos.

2.1.1.6 Inmunidad celular. Está mediada por linfocitos T, macrófagos y células citolíticas que reconocen y actúan sobre los patógenos con crecimiento *intracelular*. Los linfocitos T se activan por los macrófagos y por los linfocitos B, que le presentan los antígenos extraños junto al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) del propio huésped. Las células T activadas tienen distintas acciones sobre el agente extraño, las células T citotóxicas pueden atacar directamente y lisar las células del propio huésped que presentan Ag extraños mientras que las células T helper estimulan la proliferación de células B y la producción de Ig. Las células T activadas también elaboran citocinas, que inhiben directamente el crecimiento de los patógenos o estimulan su destrucción por los macrófagos y las células citotóxicas del huésped, además de estimular la respuesta inflamatoria

2.1.2 SISTEMAS Y MOLÉCULAS QUE INTERVIENEN EN LA RESPUESTA INMUNE

2.1.2.1 Fiebre

Se entiende por fiebre la temperatura axilar mayor de 37º C pero se considera febrícula si esta temperatura no supera los 37,5º C. Es muy inespecífica de manera que procesos banales pueden producir una fiebre muy alta (gripe) mientras que otros graves aumentan ligeramente la temperatura corporal (endocarditis, shock séptico), al mismo tiempo que la edad es un factor a tener en cuenta ante un paciente con fiebre. Así, en pacientes jóvenes la fiebre suele ser debido a infecciones víricas, en ancianos a infecciones bacterianas

agudas y en la población pediátrica, más concretamente en niños menores de 3 años, puede ser de origen idiopático (20 %) y aunque muchos de los últimos padecen una enfermedad vírica benigna, tienen mayor riesgo de contraer una infección bacteriana grave.

Se produce debido a la presencia de sustancias denominadas pirógenos. La mayoría de los pirógenos exógenos (ajenos al huésped) son microorganismos, sus productos o sus toxinas. El más conocido es un grupo heterogéneo de moléculas que poseen todas las bacterias. Las Gram negativas poseen la endotoxina (LPS) y las Gram positivas el ácido lipoteicoico y PG de la pared celular. Estos actúan estimulando la célula del huésped (normalmente monocitos y macrófagos) para que sinteticen pirógenos endógenos (citocinas). Se sintetizan localmente o en todo el organismo, penetran en la circulación y producen fiebre actuando sobre el hipotálamo. Las citosinas productoras de fiebre son la IL-1alfa, la IL1-beta, el TNF-alfa, el interferon-alfa (IFN-alfa) y la IL-Beta.

2.1.2.2 Sistema del complemento

Es un grupo de proteínas séricas termolábiles que actúan como una cascada cooperativa y autorregulada de enzimas que se adhieren y, en ocasiones, rompe la superficie del agente invasor. Son las responsables de funciones activas de la inmunidad humoral y de la inflamación.

Algunas de estas proteínas de adherencia superficial (C3b) pueden actuar como opsoninas para la destrucción del invasor por los fagocitos. Otros componentes del Co (C7, C8, C9) tienen la capacidad de destruir directamente algunas bacterias, al formar un “complejo de ataque a la membrana” que rompe la integridad de la membrana bacteriana provocando la bacteriolísis. Mientras que otros, C5a fundamentalmente, C4a y C3a, actúan como sustancias químicas que atraen a los PMN, y en casos extremos provocan una reacción similar a la anafilaxia. Existen también otro tipo de proteínas del Co con capacidad de unirse

a sustancias extrañas y solubilizarlas, con la finalidad de limitar el tamaño de las mismas y facilitar así su fagocitosis.

Además los receptores del Co localizados en la superficie de los linfocitos B

(CD21 y CD35) amplifican la respuesta de los receptores antigénicos de la célula B, regulando así la respuesta inmune frente a un agente extraño y evitando la autoinmunidad. La activación y el depósito del Co tiene lugar por dos vías: la vía clásica activada por complejos inmunitarios (Ac unidos a Ag), y la vía alternativa activada por componentes microbianos. Ambas vías convergen utilizando la misma proteína C3 que da lugar a los distintos componentes del Co y por tanto a sus diversas funciones. Los fragmentos libres formados como resultado de la rotura de C3 y C5 son promotores de la respuesta inflamatoria, así el C3a estimula la liberación de granulocitos de la médula y el C5a actúa como quimiorreactante de monocitos, neutrófilos y eosinófilos aumentando la dilatación y la permeabilidad vascular y la producción de radicales libres del oxígeno. En grandes cantidades el C5a puede contribuir a la fisiopatología del shock séptico. Se ha descubierto recientemente una lectina fijadora de manosa (MBL, proteína sérica de la familia de las colectinas) que se une a la manosa de los carbohidratos de la superficie microbiana, y su activación es similar a la vía clásica del Co pero no requiere la presencia de Ac.

2.1.2.3 Citocinas

Las citocinas son proteínas pequeñas no estructurales (polipéptidos o glicoproteínas) de un peso molecular pequeño (entre 8-40.000 daltons-D) sintetizadas por distintas células del huésped, especialmente monocitos, macrófagos y linfocitos T activados, de ahí que originalmente se les denominó ¨linfocinas¨ o ¨monocinas¨ en función de su origen. Actualmente se les denomina a todas citocinas, ya que prácticamente todas las células nucleadas del organismo son capaces de sintetizarlas. El gen que estimula su síntesis se activa ante acontecimientos nocivos, es decir no se almacenan, se sintetizan

únicamente como respuesta a la inmunidad natural y específica, motivo por el que el ARNm que las codifica suele ser inestable. Las citocinas comienzan su actividad uniéndose a receptores diana y muchas tienen efectos sobre la síntesis y actividad de otras. Inicialmente se pensó que eran hormonas, sin embargo, dadas las características del estímulo y del lugar de su síntesis se ha desechado esta teoría.

Las funciones de las citocinas son muy diversas. Son reguladoras de la respuesta a la infección, respuesta inmune, inflamación y trauma, e intervienen como estimuladoras de la proliferación y diferenciación de linfocitos inmaduros y de la división celular de muchas de sus células diana. Debido a esta diversidad de funciones muchas citocinas potencian la actividad de otras mientras que existen otras que las inhiben.

Se pueden clasificar en función de su actividad proinflamatoria o antiinflamatoria:

2.1.2.4 Citocinas proinflamatorias son aquellas que promueven la inflamación. Por ejemplo, la IL-4 y la IL-13 son potentes activadores de los linfocitos B. Los genes de la fosfolipasa A2 tipo II (PLA2), la ciclooxigenasa-2 (COX-2), el oxido nítrico sintasa inducible (iNOs) codifican enzimas que aumentan la síntesis de factor activador de plaquetas y los leucotrienos, los prostanoides y el oxido nítrico (NO). La IL-1 y el TNF-□ son inductores de moléculas endoteliales de adhesión, que son esenciales para la adhesión de leucocitos a la superficie endotelial y para la migración a los tejidos.

2.1.2.5 Citocinas antiinfamatorias son aquellas que suprimen la actividad de las citocinas proinflamatorias bloqueando la cascada o disminuyendo la intensidad de su actividad. Por ejemplo, la IL-10, la IL-13 y el TNF-β suprimen la producción de IL-1, TNF-alfa, quimiocinas y moléculas de adhesión vascular.

Debe de existir un equilibrio entre la síntesis de citocinas inflamatorias y proinflamatorias para el adecuado control de la respuesta inflamatoria.

Existen dos citocinas que por su importancia requieren especial mención, la IL-1 y el TNF-alfa:

2.1.2.6 IL-1. El gen que codifica la síntesis de la familia de las IL-1 (IL-1alfa, IL-1beta y receptor antagonista de IL-1) se localiza en el brazo corto del cromosoma 241. La IL-1alfa y IL-1beta se unen al mismo receptor por lo tanto tienen actividades similares. Es capaz de producir fiebre, cefalea, mialgias y artralgias. Induce la expresión de genes de PLA2 y COX-2, así como la activación y liberación de los mediadores derivados de los lípidos, como la prostaglandina E2 (PGE2), el tromboxano (Tx), el factor activador de plaquetas (PAF) y los leucotrienos. La PGE2 produce vasodilatación periférica mientras que el Tx es vasoconstrictor y estimula la agregación plaquetaria. El PAF es un potente estimulador de la agregación y degranulación de los neutrófilos y favorece la agregación plaquetaria.

La IL-1 favorece también la migración de las células fagocitarias locales, la síntesis de la IL-6 y de la IL-8 que es un potente activador quimiotáctico de neutrófilos y monocitos y estimula la liberación de enzimas por los neutrófilos, potenciando el ataque contra el agente invasor. Estas citocinas actúan directa o indirectamente mediando la vasodilatación y la formación de moléculas adhesivas, estimulando linfocitos T y B y favoreciendo el poder destructivo de las células fagocitarias.

Se han identificado dos receptores de unión de la IL-1, la IL-1Rs y la IL-1Ra, cuyos genes se localizan en el brazo largo del cromosoma 2 y están constituidos por tres dominios similares a la IgG. Los receptores de la IL-1 tipo I se localizan en todas las células de individuos sanos y se incrementan de dos a tres veces en el curso de una enfermedad, no así el gen que expresa la IL-1alfa que en condiciones normales no se expresa y ante determinadas sustancias de microorganismos o inflamatorias aumenta hasta 100 veces. Los Ac contra los receptores de la IL-1 bloquean la unión y la actividad de la misma. Se ha

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis.
Phua J, Koay ES. Lee KH. Lactate, procalcitonin, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide versus cytokine measurements and clinical severity scores for prognostication in septic shock. Shock 2008; 29:328-333.

demostrado en estudios realizados en ratones que tras la administración de antagonistas de los receptores de la IL-1 se produce un control de la actividad de la IL-1, evitando así la respuesta exacerbada de la misma y por tanto el mal pronóstico de la enfermedad.

2.1.2.7 El TNF-alfa. El gen que codifica la síntesis se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y posee múltiples polimorfismos que repercuten en el pronóstico de la infección. El TNF se secreta a los pocos minutos tras la infección pero tras 3-4 horas los niveles de TNF séricos se vuelven indetectables45. Estimula la coagulación intravascular induciendo inicialmente la expresión del factor tisular (FT) por los monocitos y la síntesis de la IL-6. Cuando las células expresan el TNF-alfa se une al factor VIIa para formar un complejo activo que puede convertir los factores X y IX de coagulación en sus formas enzimáticamente activas y se produce una alteración en la funcionalidad de la vía proteína S-proteína C, a la vez que tiene lugar un aumento del nivel plasmático de inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno. En definitiva, existe una tendencia al acumulo intravascular de fibrina, a la trombosis y a la hemorragia. El TNF-alfa también estimula a las células del endotelio para producir y estimular la síntesis de citocinas, PAF, factor de relajación derivado del endotelio (NO) y otros mediadores. A diferencia de los receptores de la IL-1, los receptores del TNF (TNF p55 y TNF p75) son dímeros o trímeros, en los que el dominio citosólico del TNF p55 contiene el denominado “death domain” que conlleva una muerte celular programada. El TNF induce la apoptosis mientras que la IL-1 no, sin embargo ambos se unen estimulando el NO que media la muerte Celular.

2.1.2.8 Otras citocinas importantes son las siguientes:

IL-6. El gen que codifica su síntesis se localiza en el cromosoma 7 y está síntesis se produce tanto en células linfoides como no linfoides. Es una citocina multifuncional que se sintetiza de manera precoz frente a un daño y su concentración es proporcional a la severidad del mismo, complicaciones y

mortalidad. Una de las características más importantes de la IL-6 es que induce la síntesis hepática de las proteínas de fase aguda y regula el crecimiento y desarrollo de células hematopoyéticas y embrionarias. Es además un pirógeno muy importante.

Se ha asociado a fallos hemorrágicos y está relacionada con la disfunción de la barrera intestinal tras shock hemorrágico. En el suero del recién nacido aparecen concentraciones más altas de lo habitual pero se normalizan a los pocos días y los niveles de la IL-6 en sangre de cordón aparecen aumentados en neonatos que desarrollan una sepsis neonatal precoz así como en neonatos con hemorragia intracraneal. Sin embargo, existen trabajos con resultados dispares en esta población debido quizá al desconocimiento de la cinética de dicha molécula en ese periodo.

El receptor de la IL-6 tiene solamente un dominio intracitoplasmático y polimorfismos del mismo conllevan síntesis y funciones anormales de esta citocina. A pesar de que la síntesis de esta citocina es estimulada por la IL-1 y el TNF-□, la IL-6 permanece en plasma durante más tiempo que las anteriores, por tanto se podría utilizar como marcador de sepsis49.

- ***IL-10***. Es una citocina antiinflamatoria que se sintetiza como un monómero de 18-20.000 D y que en los líquidos biológicos forma espontáneamente en homodímero. Su concentración plasmática está estrechamente relacionada con el TNF-alfa, con la gravedad de la infección y con el pronóstico de la misma. Inhibe la liberación de la IL-1, el TNF- alfa, la IL-8, los macrófagos y los monocitos. Al igual que en otras citocinas existen polimorfismos genéticos que repercuten en la evolución de la enfermedad.

- ***IL-8.*** Es una citocina con actividad quimiotáctica sobre los neutrófilos acumulados en el lugar de la infección que activa la degranulación de los mismos causando daño tisular y parece ser que interviene en el proceso inflamatorio del paciente séptico. Existen distintos estudios que demuestran que

un aumento de esta citocina tanto en plasma como en sangre de cordón permiten diagnosticar una sepsis neonatal precoz.

- ***Proteína plasmática del grupo caja 1 (HMGB1).*** Es una proteína recientemente descubierta como mediadora tardía de sepsis.

Originalmente se describió como una proteína fijadora de ADN nuclear pero aparece en el medio extracelular bajo la estimulación de macrófagos. Es una citocina proinflamatoria en estrecha relación con el TNF-alfa y por ser una mediadora tardía, quizá se pueda utilizar como tratamiento de la sepsis instaurada.

- ***Factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF).*** Es una proteína recientemente descubierta que se localiza en la glándula pituitaria, en las células T y en los macrófagos y se sintetiza como respuesta al estrés y a la infección. El LPS induce la expresión de MIF en distintos tejidos y se secreta como respuesta al aumento fisiológico de los glucocorticoides. Se ha demostrado que niveles elevados de esta proteína conllevan un peor pronóstico de la enfermedad y el tratamiento con Ac frente a MIF mejora la supervivencia en ratones con shock séptico.

- ***Receptor disparador expresado en células mieloides (TREM-1).***

Es un receptor que activa los neutrófilos, los monocitos y los macrófagos a través de la proteína DAP . Amplifica la actividad de los TRLs.

Quimiocinas

Son citocinas quimiotácticas, poseen la capacidad especial de estimular el movimiento dirigido de los leucocitos al lugar del daño (quimiocinesis y quimiotaxis).

Existe una estrecha relación entre las citocinas (activadores endógenos de la respuesta inmune) y las quimiocinas que son mediadores secundarios. La síntesis de las quimiocinas se estimula por ligandos de los TLRs (por ejemplo: productos microbianos) y prácticamente todas las células del organismo son

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: RavenPressLted, 2006; 119-136

capaces de secretarlas bajo estímulos adecuados. Su peso molecular oscila entre 8-17 kD y todas ellas contienen dos puentes disulfuro en su estructura.
Los puentes disulfuro y su función es lo que se utiliza para clasificarla en cuatro familias. La familia CC que posee dos residuos de cisteína juntos localizados en el extremo amino terminal. Se producen principalmente en la célula T activada y actúan principalmente sobre células mononucleares. Las más conocidas son la quimiocina RANTES (CCL5) y la proteína quimiotáctica del monocito-1 (MCP-1, también llamada CCL-2). La C que está formada por un único componente linfotactina (XCL1) y solo tiene un residuo de cisteína. La CXC cuyos residuos de cisteína están separados por un aminoácido en el extremo amino terminal. Se producen principalmente en los fagocitos mononucleares, células tisulares y megacariocitos y actúan principalmente sobre los neutrófilos. El más conocido es la IL-8 (CXCL8). Y la CX3C cuyo único componente, la fractalcina (CX3CL1), es un quimiorreactante soluble.

Muchas están especializadas en la defensa de la piel y del tracto gastrointestinal contra patógenos, formando parte de la respuesta inmune natural.

Los receptores a los que se unen las quimiocinas pertenecen a la familia de receptores 7 hélice-α transmembrana acoplados a proteína G, que son receptores de múltiples sustancias como hormonas, neurotransmisores, mediadores inflamatorios.

Actualmente se conocen 5 receptores de la familia CXC (CXCR1-CXCR5), 9 de la familia de CC (CCR1-CCR9), 1 de la familia CX3C (CX3CR1) y 1 de C (XCR1). Las IL actúan sobre la vida media del ARNm que codifica estos receptores para aumentar o disminuir la actividad de las quimiocinas. Así, la IL-10 aumenta la vida media del CCR1 y CCR2 mientras que el TNF disminuye la expresión de receptores de la IL-8 en los neutrófilos. Requiere especial importancia el CCR8 debido a que es un potente quimioatrayante de los monocitos e inhibe la apoptosis.

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: RavenPressLted, 2006; 119-136

La modulación de la actividad de las quimiocinas tiene lugar por múltiples mecanismos, pueden potenciar o inactivarse por distintas proteasas, heparán sulfato o proteoglicanos.

La especificidad de la respuesta celular depende en gran medida de las quimiocinas específicas liberadas por el tejido, las moléculas de adhesión vascular expresadas en ese tejido, los receptores expresados en los leucocitos del tejido y las moléculas de adhesión específicas expresadas en los leucocitos.

Es importante destacar que son tan importantes las quimiocinas en sí mismas como sus receptores dado que la regulación de su actividad se realiza a través de los mismos

Hemostasia

Se define hemostasia como el conjunto de mecanismos que tienen la finalidad de evitar la pérdida de sangre al exterior del sistema vascular. Se compone de las siguientes fases: espasmo vascular, formación de trombo plaquetario en la superficie vascular, coagulación y organización y disolución del coágulo (fibrinolisis).

El trombo plaquetario es la superficie física sobre la que se forma la fibrina que comienza cuando las plaquetas entran en contacto con estructuras del subendotelio a través de un mecanismo de contracción celular dependiente de calcio, y contribuyen a la actividad de las vías de coagulación plasmática.

La coagulación plasmática tiene como objetivo la formación de coágulo de fibrina que es la transformación de fibrinógeno, proteína plasmática soluble, en fibrina, insoluble en plasma, por la acción de la trombina. La trombina es una enzima proteolítica que se forma a partir de la protrombina por activación de la coagulación plasmática, y promueve tanto la transformación del fibrinógeno en fibrina como la estabilización del coágulo. La síntesis de trombina tiene lugar a través de una serie de reacciones en cadena en la que intervienen múltiples factores de coagulación en las denominadas vías de coagulación (extrínseca e intrínseca)

2.1.2.9 Sistema hematopoyético

El sistema hematopoyético del organismo humano está formado por tres series celulares denominadas serie roja, serie blanca y serie plaquetar.

La serie roja está formada por los hematíes cuya cifra de normalidad oscila entre 5,5 x 106/µL en el varón y 4,8 x 106/µL en la mujer. Sin embargo, para establecer el estado anémico o de poliglobulia en un individuo es necesario valorar estas cifras junto con la concentración de hemoglobina en sangre del mismo. Durante una infección y/o inflamación se van a producir cambios reológicos de las células y como consecuencia de los mismos disminuirá la deformabilidad de los hematíes y aumentará la agregación celular.

La serie blanca está formada por los leucocitos, y estos a su vez se dividen: PMN (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y mononucleados (linfocitos y monocitos). La sangre actúa como vehículo de los leucocitos desde la médula ósea (lugar de producción) hasta los tejidos donde actúan. El sistema hematopoyético del organismo además de producir la cantidad de leucocitos necesaria para realizar las funciones fisiológicas (proceden de una célula progenitora común) mantiene una reserva celular en la médula ósea que puede ser movilizada en la inflamación o en la infección, y su maduración se regula a través de los factores estimuladores de colonias y de las IL. Existen pruebas que demuestran que los monocitos de la sangre humana y los macrófagos tisulares producen factores estimuladores de colonias (sustancias hormonales para el crecimiento de los monocitos y los neutrófilos en la médula ósea).

Los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en la sangre y su cifra de normalidad oscila de 2,5-7,5 x 103/µL. Son leucocitos de tiempo de vida media corta (12-14 horas), redondeados y su tamaño varía de 12-14 µm. Tienen el núcleo segmentado en tres o cuatro lóbulos unidos por finos puentes cromatínicos. Se desconoce la función fisiológica del núcleo multilobulado pero parece ser que esta característica confiere a la célula una mayor deformación durante el proceso de diapedesis. En ocasiones y fundamentalmente en el

género femenino el núcleo posee un pequeño apéndice correspondiente a la cromatina sexual que se denomina palillo de tambor o “drumstick”. El citoplasma de los neutrófilos posee una granulación primaria y secundaria que contienen mieloperoxidasa y lactoferrina respectivamente, y por tanto dichas enzimas se utilizan como marcadores de granulopoyesis. Presentan también vesículas secretoras que contienen fosfatasa alcalina granulocítica, citocromo b y el Ag CD-11b.

Su función es fagocitar y destruir agentes patógenos a través de sustancias bactericidas como radicales del oxígeno y nitrógeno, de manera que son los leucocitos predominantes durante la primera fase de la respuesta inflamatoria y juega un papel importante en la acumulación de otro tipo de leucocitos. La médula ósea regula la liberación de los neutrófilos a la sangre periférica y su producción, y se ha observado que ante estímulos de infección las formas inmaduras aumentan en la médula ósea a las 4 horas de dicho estímulo y las formas maduras a las 24 horas (enterotoxina B staphyloccocica).

Los neutrófilos son atraídos hacia el lugar de la inflamación por sustancias quimiotropas (C5a) y se ha observado que un defecto de la migración de los mismos al foco de infección se asocia a una sepsis severa debido a una incapacidad de aclaramiento de la bacteria, permitiendo la diseminación de la misma y por tanto un aumento de la mortalidad del paciente. Parece ser que el responsable de este deterioro de la migración de los neutrófilos al foco inflamatorio, junto con un aumento de localización de neutrófilos en el pulmón causando un daño agudo pulmonar, son los TLR4 quizá debido a que sus polimorfismos humanos alteran la respuesta inflamatoria en el paciente séptico.

Mediado por citocinas, expresa moléculas de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) en las células endoteliales, que poseen receptores (selectinas, como el CD-62 o ELAM-1)76. Más tarde, como respuesta a citosinas inflamatorias (TNF-□ e IL-1), los PMN se unen a las moléculas de adhesión a través de sus integrinas facilitando así su diapedésis al compartimiento extravascular. Cuando los

neutrófilos se localizan en este compartimiento diversas moléculas acentúan el proceso inflamatorio, por ejemplo los ácidos araquidónicos.

Recientemente se ha descubierto la expresión de EPCR en la superficie de neutrófilos y eosinófilos, demostrando la modulación de la PCA en la migración de neutrófilos al foco de infección, así como la actividad de los mismos influyendo en su unión al endotelio suprimiendo la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 y en la liberación de enzimas bactericidas de los neutrófilos (elastasa, mieloperoxidasa) en respuesta a estímulos mecánicos, térmicos y químicos.

La unión de los neutrófilos al endotelio vascular tiene lugar a través de dos familias de moléculas de adhesión, las selectinas (CD62L) que interactúa con oligosacáridos del endotelio y las integrinas, heterodímeros que se adhieren firmemente al endotelio. La unión de los neutrófilos a las bacterias para opsonizarlas tiene lugar a través del receptor CD-64 del neutrófilo que se une fuertemente a la IgG que recubre la bacteria y que se expresa fundamentalmente en los neutrófilos activados, este hecho hace que se proponga este receptor como parámetro de laboratorio en un paciente séptico obteniendo resultados tan óptimos como una sensibilidad del 87,6 % y una especificidad del 71,2 %. El CD-64 es estable durante 36 horas a temperatura ambiente en sangre anticoagulada y no existe una correlación entre PMN y PMN-CD- 64. Sin embargo, presenta varios inconvenientes como el que se presenta aumentado en aquellos pacientes que están recibiendo tratamiento con factores estimuladores de colonias o interferon, la técnica actual es compleja y de coste elevado por tanto no es practicable su realización en un laboratorio de urgencias de forma rutinaria.

Dado que en la inflamación existe una migración de neutrófilos al foco inflamatorio tiene lugar una alteración tanto cualitativa como cuantitativa de estas células hemáticas, es decir en estos procesos se puede producir una neutrofilia (aumento del número de neutrófilos) debido a un aumento de la producción y movilización de estas células de la médula ósea por distintos estímulos (citocinas), aunque también es posible observar una neutropenia (disminución

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: RavenPressLted, 2006; 119-136

del número de neutrófilos) en pacientes infecciosos con linfocitosis. De hecho la cifra de neutrófilos en valor absoluto (N#) se utiliza como indicador de infección, incluso algunos autores indican que en una meningitis neumocócica la cifra de leucocitos en líquido cefalorraquídeo menor de 1,0 x 103/µL podría indicar la presencia de bacteriemia con complicaciones sistémicas.

Respecto a la alteración cualitativa de los neutrófilos es normal la presencia de células inmaduras en sangre periférica (desviación izquierda), como los cayados y los metamielocitos (células inmaduras de mayor tamaño que poseen el puente cromatínico del núcleo más ancho de lo normal), debido a la liberación de células por la médula ósea estimulada por las citocinas, así como gránulos citoplasmáticos (cuerpos de Dohle) que probablemente sean fragmentos del retículo endoplasmático rugoso o grandes vacuolas que posiblemente sean fragmentos de membrana internalizados en los neutrófilos.

La presencia de células inmaduras, y por tanto células de mayor tamaño, con células maduras en sangre periférica, unido a los avances tecnológicos de los analizadores de hematología, capaces de expresar el volumen de distribución neutrofílica ha hecho pensar a algunos investigadores en este parámetro como marcador de septicemia, ya que es independiente del número de neutrófilos y presenta una sensibilidad del 69 % y una especificidad del 100 %, si bien son necesarios más estudios para discernir entre una reacción leucemoide sin infección de una infección propiamente dicha.

De uso más antiguo y extendido es la observación al microscopio de una extensión de sangre periférica, en la que se destaque la presencia y el tipo de células inmaduras así como su porcentaje. Algunos autores apuntan hacia esta prueba como una herramienta útil de diagnóstico, incluso existen modelos multivariantes que permiten realizar un diagnóstico diferencial. Así, uno de los modelos presentado que incluye el N#, presencia de cayados y células granulocíticas inmaduras (índice de inmadurez) muestra una curva ROC para el diagnóstico de infección bacteriana de 89 %, frente al modelo que incluye el N#

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: RavenPressLted, 2006; 119-136

y presencia de cayados y el que incluye solamente el N#, con un AUC ROC de 0,86 y 0,78 respectivamente. Es importante tener en cuenta que la observación de una extensión de sangre periférica requiere personal especializado y tiene diversos inconvenientes como son variaciones interobservador imprecisión) y variaciones debidas a la distribución no homogénea de los leucocitos en la extensión.

Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de los megacariocitos. Son anucleadas, de forma discoide, con un volumen comprendido entre 7-11 fL que permanecen en sangre periférica durante 8-12 días hasta su destrucción en el bazo. Se observan dos zonas claramente delimitadas, cromómero localizada en el centro y que posee los gránulos azurófilos, y hialómero que corresponde a la zona periférica e incolora. Se diferencian los gránulos-α, que contienen factor plaquetario (factor de crecimiento de fibroblastos), fibrinógeno, factor V y factor VII (von Willebrand), albúmina y otras proteínas, y los cuerpos densos, que contienen calcio, serotonina, adenosindifosfato (ADP) y adenosintrifosfato (ATP). Las plaquetas poseen gran cantidad de enzimas como la fosfatasa glucuronidasa, arilsufatasa, N-acetil-β-glucosaminidasa, aunque el marcador más específico de las mismas es la peroxidasa. Los hematíes contribuyen a la adhesión de plaquetas para la formación del trombo debido a que su mayor número, mayor tamaño y capacidad de deformación hace que ocupen el centro de la luz vascular desplazando las plaquetas hacía las paredes.

De manera que ante un proceso infeccioso y/o inflamatorio se produce una activación y un aumento del número de plaquetas en sangre periférica, sin embargo existen casos descritos de bacteriemia en los que la cifra aumentada de plaquetas proporcionada por el analizador está falseada debido a la presencia de la bacteria en sangre periférica. No obstante, la determinación de parámetros hematológicos, así como la observación de una extensión de sangre periférica por un observador cualificado no permite discernir entre una reacción de fase aguda sin infección y un proceso infeccioso propiamente dicho. Como

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: RavenPressLted, 2006; 119-136

consecuencia de las modificaciones hematológicas y bioquímicas la VSG se incrementa. Su valor normal en la primera hora oscila es de 15 mm en el hombre y 20 mm en la mujer. El aumento de VSG está en relación directa con la rapidez con la que los hematíes se agregan y sedimentan y depende de varios factores: disminución del volumen corpuscular medio (VCM) y número de hematíes, así como de su forma, aumento de fibrinógeno y ciertas globulinas plasmáticas. Aumenta en infecciones agudas y crónicas, procesos inflamatorios, neoplasias y enfermedades hematológicas.

Las anemias también provocan un aumento de VSG mientras que al poliglobulias las disminuyen. Sin embargo, es una magnitud muy inespecífica, que se debe de valorar con cautela sobre todo en los ancianos que tiende a aumentar sin que exista enfermedad. Fisiológicamente las únicas situaciones en las que aumenta son la menstruación y el embarazo.

A pesar de la inespecificidad de este parámetro ningún individuo puede considerarse sano si tiene la VSG extremadamente alta, y será necesario buscar la causa de dicho aumento. Por el contrario, la normalidad de este parámetro no excluye la posible existencia de enfermedad. La VSG es útil en el control evolutivo de la enfermedad, de manera que mientras esté alterada se considera que el proceso no ha revertido en su totalidad.

2.1.2.10 Marcadores de coagulación

Existe una relación muy importante entre coagulación e inflamación, de manera que en la sepsis la inflamación puede aumentar la coagulación y el fallo de los mecanismos naturales de anticoagulación potencia el proceso inflamatorio. La sepsis inicia el proceso de coagulación al activar el endotelio e incrementar la expresión del factor tisular, poniéndose en marcha la cascada de reacciones que conduce a la formación de trombina, la cual convierte el fibrinógeno en fibrina. La formación de microtrombos aumenta la lesión tisular, por la propia obstrucción vascular, pero también por medio de la liberación de mediadores moleculares.

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New

Las consecuencias clínicas de los cambios inducidos por la sepsis en la cascada de la coagulación son la elevación de los marcadores de coagulación intravascular diseminada y la disfunción orgánica

Proteína C. Es una glicoproteína activada por los complejos trombinatrombomodulina, que se fija a la proteína S e inactiva proteolíticamente los factores Va y VIIIa. Parece ser especialmente sensible al efecto inhibitorio de los mediadores inflamatorios. Sus niveles disminuyen mucho en la sepsis y correlacionan con la mortalidad.

Factor de Activación de Plaquetas. Es un fosfolípido derivado de la membrana celular, con un importante papel en la activación de las plaquetas, la contracción del músculo liso, la quimiotaxis y la degranulación de polimorfonucleares y monocitos.

Antitrombina III. Es una glicoproteína sintetizada en el hígado. Neutraliza la trombina y los factores VIIa, IXa y Xa. En el transcurso de la sepsis su actividad está disminuida, con frecuencia por debajo del 50 % de sus valores normales. La disminución de sus niveles en las fases iniciales de la sepsis puede ser un indicador válido de mal pronóstico.

Trombomodulina. Es una glicoproteína anticoagulante encontrada en la superficie de las células del endotelio vascular. Interactúa con la trombina, acelerando su inactivación por la antitrombina y por la proteína C. En algunos estudios se ha visto que sus niveles plasmáticos están elevados en pacientes con sepsis, traumatismos y disfunción orgánica y puede correlacionar con la gravedad de esta última.

Factor de von Willebrand. Es una proteína producida casi exclusivamente por las células endoteliales bajo diversos estímulos, como embarazo, hipoxia, estrés físico, citocinas, trombina, histamina y elastasa leucocitaria.

Sus niveles estén elevados en pacientes con sepsis, correlacionan con su gravedad y pueden predecir el desarrollo de lesión pulmonar.

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: RavenPressLted, 2006; 119-136

Dímero D. Se produce a partir de la destrucción de la fibrina y es un indicador de la formación del coágulo y de su lisis. Sus niveles están aumentados en pacientes con coagulación intravascular diseminada inducida por la sepsis y se correlacionan con la concentración de citosinas proinflamatorias. También se ha correlacionado con el desarrollo de fallo multiorgánico y la mortalidad en pacientes con sepsis. Los traumatismos y la cirugía, en los cuales hay activación de la coagulación, también se asocian con aumento de sus niveles plasmáticos

2.1.2.11 Marcadores neuroendocrinos

Péptido natriurético atrial (ANP) y cerebral (BNP). El atrial es liberado en respuesta a la distensión auricular, mientras que el cerebral es liberado tras el estiramiento ventricular. En pacientes con shock séptico los niveles elevados de ANP se asocian con una mayor mortalidad por depresión miocárdica. Los niveles de BNP también están elevados en las fases precoces del shock séptico y se le han atribuido valor pronóstico.

Adrenomedulina.Pertenece a una superfamilia de péptidos en la que se incluyen el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, la calcitonina y la amilina. Está elevada en pacientes con SIRS, sepsis y shock séptico y sus niveles correlacionan con la gravedad del shock séptico y con su pronóstico

Otros marcadores

Triggering Receptor Expressed on Myeloid cell-1 (TREM).

Endocan.

Fosfolipasa A2.

Lactato. Es producido por la enzima lactato deshidrogenasa a partir del piruvato. En pacientes con sepsis se eleva su concentración en el plasma y parece existir correlación entre dichos niveles y la mortalidad en pacientes con shock séptico

Elastasa leucocitaria.

Neopterina.

High-Mobility Group Box 1 (HMGB1).

Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York:

CAPÍTULO 3

3.1 SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SRIS).

En 1992, el Colegio Americano de Médicos de Tórax y la Sociedad Americana de Medicina Crítica publicaron la definición formal de sepsis, por primera vez se brinda un esquema conceptual de trabajo, con el cual se define también la respuesta inflamatoria sistémica como coadyuvante al proceso infeccioso.

Esta respuesta inflamatoria se presenta como un proceso lesivo de constante progresión que, de no limitarse, culmina en el desarrollo del síndrome de falla orgánica múltiple (FOM) y finalmente en la muerte del paciente. A raíz de esta publicación hemos sido capaces de identificar con más seguridad el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), pese a lo inespecífico de sus criterios diagnósticos; y aunque fue descrito originalmente en el trasfondo de un proceso infeccioso, hoy sabemos que representa una respuesta inespecífica que marca gravedad y que guarda estrecha relación con el desarrollo de falla multiorgánica cuando la intensidad de su presentación es importante o bien cuando no se limita el tiempo de evolución.

La respuesta inflamatoria sistémica conforma un mecanismo de defensa inespecífico, constituido por una serie de criterios también inespecíficos, cuya alta sensibilidad crea problemas para su adecuada interpretación. Los signos clínicos y de laboratorio de inflamación sistémica, incluyen cambios en la temperatura corporal, taquicardia, leucocitosis o alteración en el ritmo respiratorio, y se presentan de igual forma en pacientes con un proceso infeccioso subyacente que en problemas sin una base infecciosa.

Una respuesta inflamatoria similar a la sepsis ocurre en pacientes críticamente enfermos con pancreatitis, choque, trauma severo, cirugía mayor y quemaduras graves.

Es de suma importancia poder identificar a aquellos pacientes con síndrome de respuesta inmune dentro de un contexto séptico, de aquellos que no lo presentan.

Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A pospective study. JAMA 2005; 273: 117-123.

No obstante, por sí mismo el síndrome de respuesta inmune tiene implicaciones pronósticas.

Está bien demostrado que en aquellos pacientes con cualquier tipo de patología grave que desarrollen síndrome de respuesta inmune y no se limite su tiempo de evolución, el pronóstico empeora considerablemente. Por ello es importante valorar dichos criterios siempre bajo el contexto del paciente.

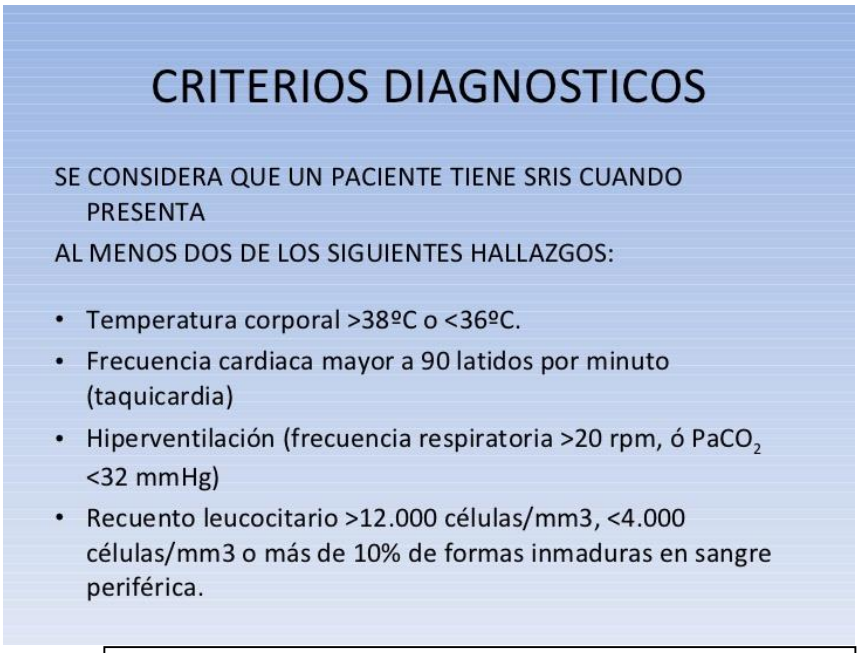


Grafico Obtenido de: http://es.slideshare.net/medicinaudm/sindrome-de-respuesta-

3.2 SEPSIS.

La sepsis es la respuesta inflamatoria sistémica a la infección, que involucra una compleja interacción clínica, hematológica, inmuno-inflamatoria y metabólica, que de no controlarse evoluciona a disfunción orgánica múltiple y muerte, es decir cuando no existe infección comprobada o sospechada no se puede hablar de sepsis. La infección es el proceso patológico secundario a la invasión de tejido, líquido o cavidad normalmente estéril por microorganismos patógenos.

El sustrato inmunológico de la sepsis es una compleja interacción entre los microorganismos infectantes, sus productos y la respuesta inmune del huésped. La respuesta inmune se divide en innata y adaptativa.

La inmunidad innata filogenéticamente es primitiva por lo que la comparten vegetales y animales. Es mediada por monocitos, macrófagos y células dendríticas. Se caracteriza por ser de respuesta rápida, actúa directamente sobre el patógeno sin necesidad de selección o maduración celular, no tiene memoria y es fundamental en la génesis de la sepsis y el choque séptico.

La respuesta inmune adaptativa se caracteriza por la selección clonal de linfocitos antígeno-específicos, es tardía, tiene memoria, da protección prolongada y no participa en la génesis de la sepsis y el choque séptico. La función de la inmunidad innata es el reconocimiento de constituyentes microbianos, lo que desencadena una respuesta celular y humoral caracterizada por activación de neutrófilos, células endoteliales, monocitos-macrófagos y la síntesis de citocinas pro-inflamatorias.

La activación de la inmunidad innata es inducida por productos bacterianos como: lipopolisacáridos, peptidoglicanos, ácido lipoteicoico, lipoproteínas, DNA, glicolípidos, fragmentos de pared celular y lipoarabinonomanan que en conjunto reciben el nombre de patrones moleculares asociados a patógenos que interactúan con los receptores Toll. Los receptores Toll se describieron inicialmente en la mosca *Drosophilamelanogaster*; son una familia de proteínas transmembrana con un dominio extracelular caracterizado por repeticiones de leucina y un dominio intracelular homólogo al receptor de la IL-1. En el hombre y por su semejanza a los de Drosophila se denominan receptores semejantes a Toll (en inglés Tolllike receptors, TLR). Se han descrito hasta el momento 10 en el hombre y cada uno de éstos tiene diferente localización celular y afinidad por patrones moleculares asociados a patógenos.

TLR 1-2: Peptidoglicanos de bacterias Gram positivas.

TLR 3: Virus RNA.

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis. Phua J, Koay ES. Lee KH. Lactate, procalcitonin, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide versus cytokine measurements and clinical severity scores for prognostication in septic shock. Shock 2008; 29:328-333.

TLR 4: Lipopolisacárido de bacterias Gram negativas.

TLR 5: Flagelina bacteriana.

TLR 6-2: Lipopéptidos y peptidoglicanos derivados de Mycoplasma.

TLR 7: Componentes antivirales pequeños.

TLR 9: DNA bacteriano.

Los receptores semejantes a Toll una vez estimulados interaccionan con varios receptores de membrana e inician una cascada molecular intracelular que lleva a la activación de factores de transcripción citoplásmicos. De éstos, el complejo del Factor Nuclear kB (FNkB) es fundamental, pues es el activador de genes que regulan la síntesis de mediadores proinflamatorios y moléculas afines que son la piedra angular de la etiopatogenia de la respuesta inflamatoria sistémica a la infección. El FNkB es un heterodímero citosólico que está constituido por dos subunidades proteicas denominadas p65 y p50 aunque también se han descrito otras como Rel, Rel B, v Rel y p52. En condiciones de reposo se encuentra inactivado por su inhibidor específico IkB que está constituido por las proteínas IkB alfa, IkB beta, IkB gamma, p105 y vCL3. Al desligarse de su inhibidor por la acción del complejo TRAF-6/TAK-1/TAB 1- 2 trasloca al núcleo y además de activar genes de respuesta inflamatoria lo hace del gen que sintetiza IkB, evento de gran importancia pues inicia el asa y autorregulación negativa que bloquea la cascada molecular de la síntesis de citocinas una vez erradicada la infección.

El proceso inflamatorio mediado por la liberación de citosinas una vez activada la inmunidad innata produce modificaciones importantes en la coagulación, el endotelio y la respuesta inflamatoria, lo que constituye la tríada que induce daño tisular durante la sepsis.

3.3 CHOQUE (SHOCK) SÉPTICO.

Se define como la falla circulatoria aguda caracterizada por hipotensión persistente secundaria no explicable por otras causas. Los criterios diagnósticos de hipotensión en sepsis son: disminución en la presión sistólica por debajo de

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis.

Phua J, Koay ES. Lee KH. Lactate, procalcitonin, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide versus cytokine measurements and clinical severity scores for prognostication in septic shock. Shock 2008; 29:328-333.

90 mmHg (en niños 2 desviaciones estándar por debajo de lo normal para la edad), o presión arterial media < 60 mmHg o una reducción de la presión sistólica de > 40 mmHg del basal.

Recientemente el Dr. Jean-Louis Vincent describió un modelo para estratificar a los enfermos con sepsis y que por sus siglas en inglés tiene el epónimo PIRO (P: Predisposition, I: Infection, R: Response, O: Organ dysfunction), el cual es de utilidad para discriminar patrones de morbi-mortalidad, evolución y estrategias terapéuticas.

Predisposición: Valora los factores pre-mórbidos que tienen impacto en la incidencia y evolución de la sepsis así como los factores genéticos que la determinan tomando en cuenta que el polimorfismo genético es fundamental en los patrones evolutivos de ésta. Por ejemplo, la inmunosupresión incrementa el riesgo de infección pero disminuye la respuesta inflamatoria o ser portador del alelo de factor de necrosis tumoral 2 (FNT 2) condiciona una respuesta inflamatoria más agresiva a pesar de que el inóculo bacteriano sea pequeño.

Infección: Determina que de acuerdo al sitio, tipo y gravedad de la infección el pronóstico será muy diferente. De esta manera la infección intra-abdominal o la pulmonar se asocian a una mayor mortalidad que la infección urinaria y las infecciones nosocomiales se asocian a una elevada morbi-mortalidad, sobre todo cuando son condicionadas por gérmenes multi-resistentes.

Respuesta: Las terapias actuales de la sepsis se basan más en la respuesta del huésped que en el organismo infectante, lo cual es fundamental dado que medir la respuesta es difícil y se basa fundamentalmente en la determinación de mediadores como son los marcadores biológicos (Interleucina 6, procalcitonina, etc.) o de coagulación (Proteína C Activada, antitrombina III, dímero D, etc.)

Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis.

Phua J, Koay ES. Lee KH. Lactate, procalcitonin, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide versus cytokine measurements and clinical severity scores for prognostication in septic shock. Shock 2008; 29:328-333.

Disfunción orgánica: El número y gravedad de las disfunciones orgánicas asociadas a la sepsis determinan pronóstico.

3.4 SÍNDROME DE DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA SECUNDARIA A SEPSIS (SDMO).

La disfunción de órganos es la disminución potencialmente reversible en la función de uno o más órganos, que son incapaces de mantener la homeostasis sin el apoyo terapéutico. Implica un proceso dinámico y progresivo, en donde la falla de un órgano considerará la pérdida total de la función siendo por lo tanto la etapa final del proceso.

Este cuadro clínico que se caracteriza por disfunción progresiva, y en ocasiones, secuencial, de dos o más sistemas fisiológicos, que no pueden mantener la homeostasis sin una intervención terapéutica.

3.4.1 SDMO Primario: Se le llama de esta manera a la disfunción que ocurre como consecuencia directa de una lesión conocida.

3.4.2 SDMO Secundario: Ocurre como consecuencia de la respuesta del huésped a una agresión englobándose en el SRIS.

En el estado crítico, son varios los órganos y sistemas que están en riesgo de presentar alguna disfunción, con diferentes manifestaciones que expresan la gravedad de la situación clínica del paciente.

A través de la historia los diferentes autores han utilizado sus propios parámetros y criterios para definir al SDOM, por lo que no existen criterios uniformes acerca de la definición. La mayoría de las escalas y puntajes utilizados para la valoración de la disfunción orgánica incluyen a los sistemas cardiovascular, respiratorio, renal, neurológico, hepático y metabólico.

En la tabla 1 se mencionan algunas de las principales disfunciones características de cada uno de los sistemas:

CRITERIOS DE DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA SEGÚN KNAUS Y DEITCH

Tabla 1. Disfunciones por Sistemas	
SISTEMA ORGANICO	DISFUNCIÓN
Cardiovascular	Disminución de la fracción de eyección, aumento de la permeabilidad capilar, arritmias, e hipotensión arterial.
Respiratorio	Hipoxia que requiere VMA por al menos dos días, SDRA progresivo que requiere PEEP >10 o FiO2>50% y disminución de la relación PaO2/FiO2.
Hepático	Hiperbillirrubinemia, transaminasemia, ictericia, elevación de la FA, prolongación del tiempo de protrombina y disminución de la albumina sérica.
Renal	Disminución en la diuresis, aumento en la creatinina sérica
Hematológico	Disminución en la cuenta plaquetaria, CID, elevación de la cuenta leucocitaria.
Gastrointestinal	Ileo con intolerancia a la vía oral, úlcera por stress, colecistitis aguda alitiásica
Neurológico	Alteración mental. Disminución en el estado de alerta hasta el coma.
Metabólico	Hiperglucemia con requerimientos de insulina, alteración de hormonas tiroideas.
VMA: Ventilación mecánica asistida; SDRA: síndrome de distres respiratorio del adulto; PaO2: presión parcial de oxigeno; PEEP: presión positiva al final de le espiración; FiO2: fracción inspirada de oxígeno,; CID: coagulación intravascular	

Datos y grafica obtenida de http://biomed.uninet.edu/2005/n2/misas.html

3.5 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LAS INFECCIONES EN EL PACIENTE ADULTO

3.5.1 EDAD Y ESTADO INMUNOLÓGICO

Son numerosas y variadas las alteraciones fisiológicas que se asocian con el envejecimiento. Quizá la alteración más importante sea el deterioro de la respuesta inmunológica (inmunosenescencia). Esta parece ser la responsable de un incremento de la morbicidad y mortalidad, y posiblemente, de procesos

autoinmunes y cancerígenos que se observan en personas ancianas. La respuesta al virus de la gripe y a los procesos de vacunación frente a esta enfermedad en las personas ancianas, han sido particularmente bien estudiados y se dispone de numerosos datos epidemiológicos. Así, se sabe que, del total de personas muertas por una epidemia de gripe en los Estados Unidos, aproximadamente el 80 ó 90% corresponde a personas mayores de 65 años. A pesar de que la vacuna de la gripe que se administra actualmente, ofrece una elevada tasa de protección, el 60% de las personas ancianas que han sido vacunadas sigue padeciendo la enfermedad. Además, el 20% de las muertes por gripe que son ocasionadas en personas ancianas no se puede prevenir a pesar de las campañas de vacunación. Estas observaciones han sido atribuidas al declive del sistema inmunológico asociado al envejecimiento. Numerosos factores pueden ser la causa de éste deterioro como pueden ser la involución del timo con la edad y el progresivo deterioro de los diferentes tejidos y tipos celulares implicados en la generación de una respuesta inmunológica que ya han sido descritos.

En las décadas de los 60 y 70, se iniciaron los estudios para demostrar cómo el envejecimiento afecta al sistema inmunólogico. Con muy pocas excepciones, estas investigaciones demostraron un declive con la edad tanto en las respuestas de tipo celular como en las de tipo humoral, en humanos y en roedores.

3.5.2 PATOLOGÍAS SOBREAÑADIDAS: DIABETES E HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Aproximadamente la cuarta parte de la población mundial es hipertensa y la prevalencia de diabetes tipo 2, que es la más frecuente, ronda el 6-8% de la población adulta. Tanto la hipertensión como la diabetes son factores de riesgo independientes para enfermedad cardiovascular e infecciones. Cuando coexisten tienen un efecto multiplicador en el riesgo de complicaciones tanto

macro como microvasculares. La diabetes mellitus es una de las enfermedades que mayor riesgo comporta para el desarrollo de enfermedad coronaria, e infecciosa, estimándose que en relación con la población general es entre dos y cuatro veces superior, siendo la causa del 86% de las muertes en personas con diabetes. A su vez, incrementos de 5 mmHg en las cifras de tensión arterial, sea en la sistólica o la diastólica, están asociados a un aumento en la enfermedad cardiovascular en 20-30%.

La hipertensión arterial es una comorbilidad extremadamente frecuente en los diabéticos, afectando el 20-60% de la población con diabetes mellitus. La prevalencia de hipertensión en la población diabética es 1,5-3 veces superior que en no diabéticos. La hipertensión contribuye en el desarrollo y la progresión de las complicaciones crónicas de la diabetes. El tiempo y la presentación de la hipertensión difieren entre los diabéticos tipo 1 y los diabéticos tipo 2. En los pacientes con diabetes tipo 1, la hipertensión se desarrolla después de varios años de evolución de la enfermedad y usualmente refleja el desarrollo de nefropatía diabética, indicado por niveles elevados concomitantes de albúmina urinaria y, en etapas tardías, por una disminución en la tasa de filtración glomerular. Afecta aproximadamente el 30% de los pacientes. En pacientes con diabetes tipo 2, la hipertensión puede estar presente al momento del diagnóstico o aun antes de desarrollarse la hiperglicemia y a menudo es parte de un síndrome que incluye intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, obesidad, dislipidemia y enfermedad arterial coronaria, constituyendo el denominado síndrome X o síndrome metabólico.

3.5.3 HABITOS ALIMENTICIOS Y SEDENTARISMO

Los malos hábitos alimenticios y la falta de ejercicio físico predispone junto con otros factores desencadenantes a un síndrome metabólico, conocido también como Síndrome Plurimetabólico, Síndrome de resistencia a la insulina o Síndrome X- es una entidad clínica controvertida que aparece, con amplias

variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena, determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales.

Fue reconocido hace más de 80 años en la literatura médica y ha recibido diversas denominaciones a través del tiempo. Por otra parte, no se trata de una única enfermedad sino de una asociación de problemas de salud que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo, causados por la combinación de factores genéticos y ambientales asociados al estilo de vida en los que la resistencia a la insulina se considera el componente patogénico fundamental. La presencia de síndrome metabólico se relaciona con un incremento significativo de riesgo de diabetes, enfermedad coronaria y enfermedad cerebrovascular, con disminución en la supervivencia, en particular, por el incremento unas 5 veces en la mortalidad cardiovascular

3.5.4 USO IRRACIONAL DE ANTIBIÓTICOS

El uso juicioso de antibióticos se refiere a su prescripción sólo cuando están indicados y que el elegido tenga el espectro más corto necesario para ser efectivo. Un uso apropiado de antibióticos significa la elección no sólo del correcto, sino también en la dosis y duración adecuadas para no promover el desarrollo de resistencias. Es incuestionable que el uso de antibióticos a cualquier edad, esté o no médicamente justificado, contribuye al desarrollo de bacterias resistentes como por ejemplo la colonización nasofaríngea por neumococos resistentes o infecciones urinarias por *Escherichia coli* resistentes. También hay riesgo de contraer una enfermedad invasiva por microorganismos resistentes con la dificultad consiguiente de su tratamiento. La decisión de prescribir un antibiótico puede afectar desfavorablemente a otros niños y este hecho también faculta a los médicos porque significa que por cada antibiótico no prescrito varios niños están protegidos de potenciales consecuencias.

3.5.5 CONTROL MÉDICO IRREGULAR E INEFICIENTE

Muchas enfermedades crónicas son controlables; no obstante, los enfermos no se adhieren al tratamiento. Un factor que interviene en el cumplimiento de las indicaciones terapéuticas es el trato que el paciente recibe de los profesionales de salud.

Entre los factores del paciente se pueden mencionar las creencias asociadas a la percepción de amenaza a la salud ocasionada por la enfermedad, la estimación del riesgo a enfermarse, la representación mental acerca de la enfermedad, las expectativas, motivación con respecto a que los esfuerzos que se llevan a cabo valen la pena para lograr sentirse mejor, y la valoración de las fortalezas personales; conocimiento de la enfermedad y del tratamiento, así como el afrontamiento del paciente (La Rosa, Martín y Bayarre, 2007); depresión, estrés y competencias del paciente, y sus creencias acerca de los beneficios del tratamiento (Ladero, Orejudo y Carboles, 2005; Piña y Sánchez-Sosa, 2007; Piña y Torres, 2008); percepción o no de síntomas (Granados, Roales, Moreno e Ybarra, 2007); recursos económicos y cultura (Quirós y Villalobos, 2007).

En cuanto a los factores relacionados al sistema y profesionales de salud, hay estudios que demuestran la importancia del acceso a los servicios de salud, sobre todo si éstos incluyen pláticas informativas sobre el tipo de enfermedad crónica que se padece y a las formas de control de las mismas (Quirós y Villalobos, 2007); tipo, duración y complejidad del tratamiento indicado y supervisión y apoyo por parte del equipo de salud que atiende al paciente, y empatía entre ellos (Escalona, 2005; Holguín, Correa, Arrivillaga, Cáceres y Varela, 2006; Pérez, Vidaillet, Carnot y Duane, 2003).

Por otro lado, la familia adquiere gran relevancia en la adherencia terapéutica del enfermo crónico pues puede aportarle el apoyo social necesario para afrontar su padecimiento tanto en el sentido de manejar a éste de manera

adecuada previniendo complicaciones como para enfrentarlas en caso de que se presenten. La adherencia se ha asociado a suficientes redes de apoyo de familiares y amigos, lo cual ofrece protección ante situaciones de tensión amortiguando efectos negativos estresantes de la enfermedad (La Rosa, Martín y Bayarre, 2007; Louro, 2003; Rodríguez, 2001).

3.5.6 INFECCIONES PREVALENTES EN LA EDAD ADULTA EN ECUADOR

Los reportes y estudios que se han realizado hasta hace 3 años, existe una prevalencia en tres patologías infecciosas principales en el Ecuador en pacientes adultos que requirieron de hospitalización, así se describen a las *infecciones respiratorias, las infecciones gastrointestinales y de vías urinarias*. Aun no se hay tienen nuevos datos disponible, pero por experiencias y datos estadísticos hospitalarios éstas tres patologías son causa importante de hospitalización y de manejo terapéutico con antibioticoterapia y muchos de éstos pacientes con complicaciones como sepsis producto de microorganismo multiresistentes por lo que se ha hecho un problema de salud pública en el país. A esto se añade de que muchos de estos pacientes presenta una o más comorbilidades que incrementan el riesgo de padecer una patología determinada como son la Diabetes en primer lugar y la Hipertensión arterial así como trastornos alimentarios, obesidad, desnutrición y el uso irracional de antibióticos que se expenden con facilidad sin restricción.

En el siguiente cuadro del 2010 reporte del Ministerio de Salud Pública del Ecuador se señalan las enfermedades más prevalentes entre las cuales y en primeros lugares están las antes mencionadas.

			TASA DE MORTALIDAD GENERAL (x 10.000 hab.)
Nº Orden	CODIGO L.C.	CÓD. CIE-10 DETALLADA	CAUSAS DE MUERTE
1	26	E10-E14	DIABETES MELLITUS
2	42	I60-I69	ENFERMEDADES CEREBROVASCULARES
3	34	I10-I15	ENFERMEDADES HIPERTENSIVAS
4	46	J10-J18	INFLUENZA Y NEUMONÍA
5	35	I20-I25	ENFERMEDADES ISQUÉMICAS DEL CORAZÓN
6	57	V00-V89	ACCIDENTES DE TRANSPORTE TERRESTRE
7	64	X85-Y09	AGRESIONES (HOMICIDIOS)
8	41	I50-I51	INSUFICIENCIA CARDÍACA, COMPLICACIONES Y ENFERMEDADES MAL DEFINIDAS
9	51	K70-K76	CIRROSIS Y OTRAS ENFERMEDADES DEL HÍGADO
10	53	N00-N39	ENFERMEDADES DEL SISTEMA URINARIO
11	9	C16	NEOPLASIA MALIGNA DEL ESTÓMAGO
12	55	P00-P96	CIERTAS AFECCIONES ORIGINADAS EN EL PERÍODO PRENATAL
13	47	J40-J47	ENFERMEDADES CRÓNICAS DE LAS VÍAS RESPIRATORIAS INFERIORES
14	63	X60-X84	LESIONES AUTOINFLINGIDAS INTENCIONALMENTE (SUICIDIO)
15	24	C81-C96	NEOPLASIA MALIGNA DEL TEJIDO LINFÁTICO, ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS Y TEJIDOS AFINES
16	39	I46	PARO CARDÍACO
17	6	A40-A41	SEPTICEMIA
18	20	C61	NEOPLASIA MALIGNA DE LA PRÓSTATA
19	18	C53-C55	NEOPLASIA MALIGNA DEL ÚTERO
20	7	B20-B24	ENFERMEDAD POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA (VIH)
21	2	A15-A19	TUBERCULOSIS

Fuente: http://es.slideshare.net/potter/epidemiologia-de-las-enfermedades-infecciosas-en-ecuador

CAPÍTULO 4

4.1 REACTANTES DE FASE AGUDA, PROTEÍNA C REACTIVA EN LAS INFECCIONES

Una de las proteínas de fase aguda positiva más utilizada en la práctica clínica habitual es la PCR. Esta proteína se descubrió por primera vez en 1930 en el laboratorio de Oswald Avery al estudiar pacientes infectados con *Streptococcuspneumoniae* debido a que el suero de estos pacientes en los primeros estadios de la enfermedad contenía una proteína capaz de precipitar el polisacárido C de la pared celular del neumococo. Volakanis y Kaplan cuarenta años más tarde identificaron que el receptor de la proteína C reactiva era la fosfatidilcolina, componente del ácido teicoico de la pared celular del neumococo.

En voluntarios sanos jóvenes la media de la concentración sérica de la PCR es de 0,8 mg/L, pero en fase aguda, ya sea por infección y/o inflamación puede aumentar 500 e incluso hasta 1.000 veces su valor basal. Tras un estímulo adecuado el nivel de la proteína C reactiva aumenta rápidamente en 6 horas, alcanzando su pico máximo a las 48 horas. El tiempo de vida media de la proteína C reactiva es de 48 horas y su síntesis bajo las mismas condiciones de enfermedad es continua. Así, cuando el estímulo cesa su síntesis también cesa su concentración sérica disminuye rápidamente. Sus valores normales tienden a aumentar ligeramente con la edad debido posiblemente a patologías subclínicas. Existe un nivel basal hereditario y pese a que no existen cambios estacionales o diurnos se ha descrito una variabilidad intra e interindividual de 45 % y 65 % respectivamente, así como existen estudios en los que se demuestra una disminución gradual de los niveles basales de la proteína C reactiva en mujeres blancas americanas, americanas hispanas y asioamericanas, diferencias que no se observan en los hombres de esas mismas razas. Las estatinas, el ejercicio físico y el consumo moderado de alcohol disminuyen la proteína C reactiva basal.

Se ha observado que la proteína C reactiva tiene actividad tanto antiinflamatoria, al inducir la expresión del antagonista del receptor de la IL-1, aumentar la liberación de la IL-10 e inhibir la síntesis del IFN-γ, como proinflamatoria, al activar el Co, aumentar la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales (ICAM-1, VCAM-1, Eselectina), inhibir la expresión endotelial de la iNOs en las células endoteliales aórticas, estimular la liberación de la IL-8, aumentar la expresión y actividad del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno. y aumentar la liberación de la IL-1, la IL-6, la IL-18 y el TNF-α. Como consecuencia de estas actividades contrapuestas se postula que la PCR actúa en los sistemas de defensa del organismo mientras que inhibe los efectos nocivos de una reacción inflamatoria exacerbada96.

La proteína C rectiva constituye la primera línea de defensa del organismo debido a que activa la vía clásica del Co a nivel del C1-C4 con escasa activación de las C5-C9. Este hecho puede ser debido a que la activación del Co no se produce por un complejo Ag-Ac si no que parece ser que interactúa con el factor H que conlleva una formación de C5 convertasas, estimulando la fagocitosis y uniéndose a receptores de Ig.

Recientemente se ha estudiado el papel de la proteína C reactiva en la formación de la placa de ateroma y parece ser que tiene lugar a través de distintos mecanismos. Uno de ellos es que la proteína C reactiva es capaz de inhibir la adrenomodulina, otro de los mecanismos parece ser que induce la metaloproteinasa-1 (MMP-1), al aumentar la síntesis de la IL-8 y disminuir la supervivencia de la célula endotelial progenitora, diferenciación y función de la misma vía NO. Además la proteína C reactiva es quimiotáctica para los monocitos y se une a los neutrófilos y a la fosfocolina de la LDL-colesterol, facilita la captación de LDL por los macrófagos e induce disfunción endotelial al aumentar la expresión de las moléculas de adhesión y del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno, así como la actividad del último. Todos ellos junto con la activación del Co son factores implicados en la formación de la placa de ateroma. Derivada de esta

actividad se ha establecido que cuando la concentración de proteína C reactiva es mayor de 2 mg/L existe un mayor riesgo arteriosclerótico y se propone el tratamiento con estatinas para disminuir la concentración de proteína C reactiva y su monitorización como control de la formación de la placa de ateroma.

Intimamente relacionado con la formación de placa de ateroma, se ha postulado que un ligero incremento de la proteína C reactiva aumenta el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico y cáncer de colon, e incluso en el diagnóstico y monitorización de enfermedades inflamatorias crónicas como son la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal.Sin embargo, la utilidad clásica y más extendida de la proteína C reactiva es como marcador de infección bacteriana y sepsis. Algunos autores presentan a la proteína C reactiva como un marcador de infección pero no con una determinación aislada si no mediante una monitorización de la misma, que permita conocer el comienzo de la infección así como la idoneidad del tratamiento, y demuestran que con un punto de de 8,7 mg/L de nivel sérico de proteína C reactiva y con una variación de más de 4,1 mg/L respecto del valor previo presenta una sensibilidad del 92,1 % y una especificidad de 71,4 % de padecer una infección mientras que si aumentamos el incremento de la proteína C reactiva a 5 mg/L se obtiene una sensibilidad del 81,6 % y especificidad del 89,3 %.

En los países escandinavos y en Suiza está muy extendido el uso de la proteína C reactiva para la detección de infección de vías respiratorias. Así, establecen que en las víricas la proteína C reactiva alcanza el pico máximo a los 2-4 días y su valor no suele exceder los 8 mg/L, aunque también se detectan valores elevados (hasta de 10-50 mg/L) en infecciones víricas, fundamentalmente en las causadas por virus influenza y adenovirus aunque rara vez excede los 100 mg/L. Tras cuatro días de enfermedad los niveles de proteína C reactiva disminuyen rápidamente y a los diez días su concentración es menor de 10 mg/L a no ser que exista una sobreinfección bacteriana.

Con todo actualmente se recomienda el uso de la proteína C reactiva en el laboratorio de urgencias, debido a que se determina por un procedimiento inmunoquímico automatizado (fácilmente reproducible, medible y estandarizable), y por tanto disponible las 24 horas. Además no requiere ayuno para su determinación, es una proteína estable tres días a temperatura ambiente y siete días a 4º C y presenta concentraciones similares en plasma de heparina de litio y suero, pero algo más bajos en plasma con EDTA, quizá por el efecto osmótico del EDTA como anticoagulante.También se ha descrito un efecto prozona con concentraciones mayores de 510 mg/L.

En los últimos años se ha mejorado el método analítico de la PCR determinándose la

Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-PCR) que extiende la aplicación clínica de este parámetro, e incluso se ha incluido dentro de los parámetros susceptibles de ser medidos en la cabecera del paciente. Sin embargo, la PCR en sí misma no debe utilizarse como herramienta única de diagnóstico si no que debe ser considerada junto a otros datos clínicos y de laboratorio.

4.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ELEVACIÓN DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (FALSOS POSITIVOS)

En PCR, la obtención de falsos positivos puede ser atribuida tanto a la muestra como al propio sistema de análisis, a la presencia de material genético bacteriano, células muertas y células viables pero no cultivables en el alimento, debido a los tratamientos de higienización durante el procesado del mismo o a la mayor selectividad de la técnica de PCR frente al cultivo en placa.

4.2.1 Falsos positivos debidos a la muestra

Una situación que puede dar lugar a un resultado falso positivo es la presencia en la muestra de ADN libre o de células muertas o irreversiblemente dañadas, ya que la PCR no es capaz de distinguirlo de las células vivas. Los análisis de patógenos en alimentos incluyen habitualmente un paso inicial de

enriquecimiento en un caldo de cultivo, en el que las bacterias sólo crecerán si éstas están vivas y además activas.

El crecimiento exponencial de estas bacterias y los límites de detección de los métodos basados en PCR hacen que los resultados falsos positivos debidos a células muertas en la muestra sean mínimos y se den únicamente en aquellos casos en que el contenido de ADN libre o de células muertas en la muestra sea muy elevado.

Para prevenir estos falsos positivos debidos a la muestra, la PCR a tiempo real ofrece una solución sencilla y elegante, basada en su carácter cuantitativo. A igual volumen de medio de enriquecimiento aquella muestra con un mayor número de bacterias será positiva con un valor menor de Ct. Así pues, cuando sospechamos de la presencia de una carga considerable de ADN libre o de bacterias muertas o inactivas en una muestra alimentaria, el procedimiento adecuado sería el siguiente:

1. Toma de muestra del medio de preenriquecimiento (APT, Fraser, Bolton) justo tras el momento de su inoculación
2. Incubación durante el tiempo establecido por la norma
3. Toma de muestra
4. Extracción de ADN y análisis de las muestras pre- y post-incubación.
5. Comparación de los valores de Ct Si el valor de Ct post incubación es inferior al inicial podemos afirmar que las bacterias estaban activas pues el número ha aumentado durante el proceso de preenriquiecimiento

Otra situación que puede dar lugar a falsos resultados positivos es la existencia de células viables pero no cultivables (BVNC). Sabemos que las bacterias pueden entrar en un estado fisiológico en el que, a pesar de poder ser vistas con el microscopio y saber que son viables, son incapaces de crecer en placa. En alimentos, el estado BVNC puede resultar de lesiones celulares o de la adaptación a ambientes hostiles a su fisiología. La mayoría de las BVNC pueden revertir su situación cuando el medio en el que se encuentran es favorable de

nuevo a su crecimiento. Por ejemplo, *Campylobacter* en los alimentos adopta fácilmente la forma BVNC cambiando incluso su morfología de helicoidal a cocoide. Al entrar en contacto con nuestro intestino, revierte su situación, convirtiéndose en un patógeno activo. Un análisis por microbiología clásica del alimento daría como resultado una ausencia de *Campylobacter*, ya que se trata de BVNC. Un análisis por PCR puede dar lugar a un resultado positivo, que se debería a una presencia real de *Campylobacter* en la muestra, pero que por comparación con el método estándar de cultivo sería considerado un falso positivo. Por tanto, un falso positivo por PCR debe tratarse con cautela ya que, si proviene de células BVNC, puede ser un positivo real.

4.2.2 Falsos positivos debidos al sistema de detección de la proteína C reactiva (*primers* y sondas).

Hoy en día podemos afirmar que algunos sistemas de detección son suficientemente "laxos" como para dar positivo con bacterias genéticamente próximas a las que estamos buscando. Las causas de estos falsos positivos hay que buscarlas en *primers* y sondas pobremente diseñados que no ofrecen la exclusividad que deberían. Como consecuencia se obtienen reacciones cruzadas que aparecen como positivas en las curvas de fluorescencia o en los "*final call*" y que no son otra cosa que reacciones "de baja eficiencia" debidas al fallo de uno o más nucleótidos. Todo ello es fruto, sin duda, de un descuidado diseño del sistema de detección por PCR y de un deficiente estudio de inclusividad y exclusividad. Esto suele ocurrir con enterobacteriáceas, donde la proximidad filogenética de sus integrantes es tan grande que es difícil separar unas especies de otras. Así por ejemplo podemos obtener un positivo "débil" (Ct>30) que sea el resultado de una amplificación a baja eficiencia de una bacteria cercana filogenéticamente a nuestra diana que se halla en abundancia en el preenriquecimiento. Por otro lado también pueden darse positivos "claros" debido a la amplificación cruzada de otras bacterias

4.2.3 Falsos positivos debidos a la mayor selectividad y objetividad de los métodos basados en proteína C reactiva

El número de falsos positivos puede variar en función del método con el que se compara. Es sabido que algunos métodos de referencia en Microbiología clásica presentan lagunas en su capacidad de resolver la presencia del patógeno en cuestión, lo que se traduce en una baja reproducibilidad o en niveles de detección muy elevados. En concreto en alimentos con microbiota interferente, la proliferación de ésta puede perjudicar el aislamiento de la bacteria a detectar y su posterior identificación en una superficie limitada como es la placa de cultivo.

Por otro lado, en los métodos de cultivo en placa, la identificación de las bacterias está supeditada a la expresión de las características fenotípicas de cultivos que han de ser puros y en ocasiones no lo son, siendo además estas respuestas interpretadas de forma subjetiva.

En conclusión, si los métodos basados en PCR se enfrentan a a los métodos de cultivo en placa, es esperable una cierta desviación positiva, que deberá enjuiciarse en función de los determinantes analizados anteriormente. En cualquier caso, si el sistema de PCR se considera diseñado con todas las garantías (inclusividad-exclusividad) un resultado positivo se debería contemplar como un riesgo razonable.

4.3 MÉTODOS UTILIZADOS PARA LA MEDICIÓN DE LA PROTEINA C REACTIVA

Para conocer los niveles de Proteína C reactiva, existen varios análisis como ELISA, la inmunodifusión rápida, inmunofrecuencia, el inmunoturbidímetro, nefeloometría y la aglutinación visual.

4.4 COMPORTAMIENTO DE PROCALCITONINA EN LAS INFECCIONES Y OTRAS PATOLOGÍAS

En los últimos años se han realizado múltiples estudios en los que se demuestra que existe un aumento de la concentración de la procalcitonina en la

sangre de los pacientes sépticos, y que podría detectar de una manera más sensible, específica y precoz la existencia de infección bacteriana y fúngica, discernir una reacción de rechazo de un órgano y reacción sistémica frente a infección, e incluso diferenciar la etiología bacteriana o vírica de la misma. además parece ser que esta proteína posee un gran valor pronóstico, debido a que en estos pacientes se correlaciona con la severidad de la infección, con una posible disfunción multiorgánica y mortalidad, así como la monitorización de la procalcitoninaes un indicador de la bondad del tratamiento y de la evolución del paciente.

4.5 INDICACIONES PARA LA MEDICIÓN DE LA PROCALCITONINA

Un marcador ideal de infección debería ser sensible y específico para permitir un rápido diagnóstico, informar sobre el curso y pronóstico de la enfermedad infecciosa y facilitar la toma de decisiones terapéuticas. Desafortunadamente, ese marcador de la infección aún no existe.

La procalcitonina no es un marcador perfecto porque puede elevarse en situaciones inflamatorias no infecciosas e incluso puede permanecer baja en algunas infecciones. Aun así, ha sido propuesta como un marcador de gran utilidad en SRIS, infección y sepsis.

En general, concentraciones de procalcitonina menores de 0,5 µg/L indican que la bacteriemia no es probable. El rango entre 0,5 y 2 µg/L constituye lo que se podría denominar zona indeterminada o zona gris para el diagnóstico de proceso infeccioso con riesgo de consecuencias sistémicas. Concentraciones por encima de 2 µg/L identifican pacientes con alta probabilidad de sepsis grave o shock séptico. Concentraciones plasmáticas de procalcitonina mayores de 10 µg/L normalmente se encuentran en procesos infecciosos con fallo multiorgánico. No obstante, además de las infecciones bacterianas, algunos cuadros clínicos como shock hemorrágico, politraumatismo, quemaduras graves, cirugía mayor, enfermedades autoinmunes, etc. también pueden inducir un incremento importante de las concentraciones de procalcitonina, aunque normalmente las

concentraciones observadas en estas circunstancias no suelen ser tan altas como las halladas en situaciones de sepsis grave o shock séptico.

Esta generalización no obvia que en relación a estos puntos de muchos trabajos hayan obtenido resultados contradictorios. En el metaanálisis realizado por Jones y cols., sólo con estudios que utilizan el rango de punto de más frecuente 0.4-0.5 µg/L, la idoneidad de la procalcitoninapara identificar la bacteriemia en pacientes ambulatorios es sólo moderada.

Por otro lado, Dorizzi y cols, establecieron los puntos de la procalcitoniona 1, 6 y 10 µg/L como los mejores para distinguir en pacientes críticos, quirúrgicos y no quirúrgicos, los infectados de los no infectados. Observaron que valores de procalcitonina de 1 µg/L prácticamente no distinguen pacientes con SRIS de pacientes con sepsis, sepsis grave o *shock* séptico, mientras que los puntos aprocalcitonina de 6 y 10 µg/L son mucho más decisivos. Concluyeron que se deben utilizar, incluso en un área determinada y según el tipo de paciente, distintos puntos de para diferenciar sepsis de SIRS no infeccioso.

La elección de los puntos de también llevó a Clec´h y cols. a un estudio en el que compararon pacientes con shock séptico, quirúrgicos y no quirúrgicos, y evaluaron la capacidad diagnóstica de distintos puntos de procalcitonina. Encontraron que el punto de diagnóstico es más alto en pacientes quirúrgicos y propusieron que el mejor para estos pacientes es 9.70 µg/L frente a 1,0 µg/L en los no quirúrgicos.

Por último, Ortega y cols., en un estudio realizado en pacientes con neutropenia febril después de un transplante de médula, encontraron que concentraciones de procalcitonina>3 µg/L en pacientes neutropénicos con fiebre persistente de más de 5 días y sin respuesta al tratamiento antibiótico, identifican a los pacientes con aspergilosis invasiva.

Estas y otras publicaciones señalan que los puntos de aún no están bien definidos y que deberían establecerse teniendo en cuenta factores como el ámbito clínico, el lugar, la extensión y la etiología de la infección, la presencia de

comorbilidad, el interés clínico y, muy especialmente, la sensibilidad del ensayo utilizado y los valores predictivos positivo y negativo. Es necesario establecer puntos de específicos, adaptados a contextos o entidades clínicas determinadas y/o a grupos concretos de pacientes.

Clínicamente, las infecciones son una secuencia de variables y complejas interacciones entre la respuesta inmune, los microorganismos y sus toxinas y aunque el resultado sea demasiado complejo para ser reducido a un simple punto de de un marcador de infección, la PROCALCITONINA es una magnitud que proporciona una valiosa información en el diagnóstico de infecciones bacterianas sistémicas.

4.6 MEDICIÓN DE LA PROCALCITONINA

4.6.1 Métodos de Detección

Existen varios métodos de determinación de la procalcitonina, semicuantitativo (inmunocromatográfico) y cuantitativo (inmunoluminometría y time-resolved amplified cryptate emisión-TRACE), todos ellos son métodos sencillos, existe una buena correlación y en los que no se han descrito casos de interferencia con hemólisis, bilirrubinemia y/o lipemia, solamente para sueros de alta turbidez se recomienda utilizar el método TRACE, debido a que corrige el ratio de las intensidades a la longitud de onda de medición. Tampoco se han descrito casos de interferencias medicamentosas como agentes quimioterapeúticos, fármacos vasoactivos, analgésicos, anticoagulantes o diuréticos, sin embargo medicamentos que provoquen una liberación exhaustiva de citocinas podría aumentar los niveles de procalitonina. Es importante destacar que no existen diferencias significativas entre la concentración de sangre arterial de la procalcitonina respecto de la concentración en sangre venosa (4,10 % mayor en la primera), y tampoco entre su determinación sérica o plasmática.

4.6.2 Métodos cuantitativos

Los primeros inmunoanálisis cuantitativos manuales fueron sustituidos por métodos inmunoquímicos automatizados. Esto ha supuesto mejor precisión, más fiabilidad, mayor practicabilidad, menor tiempo de respuesta y un menor coste económico, lo que ha permitido poder incorporar esta magnitud a la cartera de servicios de los laboratorios de urgencias.

Es importante señalar que aunque coexisten en el mercado distintos métodos para medir la concentración de procalcitonina, no todos presentan la misma sensibilidad analítica ni funcional. Tener en cuenta esta característica es fundamental sobre todo en el uso de la procalcitonina en distintos ámbitos clínicos.

4.6.3 Métodos Semicuantitativos

Son métodos rápidos, se realizan en placas inmunocromatográficas y pueden no requerir equipamiento. La concentración de Procalcitonina, se expresa en cuatro rangos establecidos: <0,5 µg/L, ≥0,5 µg/L, ≥2 µg/L y ≥10 µg/L.

4.7 MONITORIZACIÓN DE LA INFECCIÓN Y CONTROL DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema importante, tanto para los pacientes hospitalizados como para los ambulatorios. El uso excesivo y el mal uso de los antibióticos han contribuido a este problema. Una forma de reducir la resistencia a los antimicrobianos es limitar el uso de los antibióticos mediante programas de administración de estos medicamentos. Las guías de diferentes sociedades científicas han abordado esta cuestión y publicado recomendaciones para la utilización óptima de los antimicrobianos. A pesar de estos intentos para reducir dicha resistencia, los médicos continúan prescribiendo cursos más prolongados de antibióticos. Una nueva manera de reducir su indicación sería a través del uso de un biomarcador que aumente en presencia de

infección bacteriana y se normalice después de que la infección haya sido tratada en forma adecuada. Esto permitiría ciclos de antibióticos adaptados a cada paciente y de una duración más corta. Este marcador tendría que ser sensible y específico, sin resultados positivos falsos causados por infecciones virales u otros procesos inflamatorios, dicho biomarcador es la procalcitonina.

Para el manejo de las infecciones de las vías respiratorias inferiores y sobre la base de los estudios mencionados, la European Respiratory Society y la European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases actualmente recomiendan incluir la medición de la procalcitonina. Aunque existe muchísima literatura que apoya el tratamiento antibiótico guiado por la procalcitonina, siguen existiendo algunos reparos. Primero, el sesgo de publicación es importante, ya que hasta ahora todos los estudios fueron realizados en Europa, siendo el estudio ProVAP el único que ha examinado a un pequeño subconjunto de pacientes de un hospital de EE.UU. Segundo, la mayor parte de los estudios examinó pacientes con infecciones del tracto respiratorio lo que podría impedir la generalización a pacientes con infecciones en otros sitios. Tercero, en algunos de los estudios se hizo caso omiso del algoritmo de procalcitonina, posiblemente dando lugar a un "sesgo conservador". Cuarto, los valores de procalcitonina utilizados en los estudios fueron ligeramente variables. Quinto, las mediciones frecuentes de la procalcitonina podría no ser rentable.

En la mayoría de los pacientes, la procalcitonina predice la presencia o ausencia de una infección bacteriana. Un punto de de 0,25 µg/L para los pacientes no internados en UTI o de 0,5 µg/L para los pacientes internados en UTI parece ser apropiado para decidir el inicio y la interrupción de la terapia antibiótica. En los pacientes con un nivel basal de procalcitonina significativamente elevado, una caída posterior de esos niveles superior al 80% parece ser razonable para descontinuar los antibióticos.

4.8 CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE PROCALCITONINA CON LOS DE PCR Y RECUENTO LEUCOCITARIO

Actualmente se han instaurado métodos de diagnóstico como son la biometría hemática, que casi siempre muestra alteraciones en la serie blanca (leucocitosis o leucopenia) que varían de acuerdo al grupo etáreo. Puede observarse además anemia y trombocitopenia. La relación neutrófilos inmaduros/neutrófilos totales (I/T=índice séptico), ha sido utilizado muy frecuentemente con valor predictivo positivo mayor a 0,2. Ballesteros y colaboradores el año 2008, encontraron una sensibilidad 73% y especificidad de 80%, con un valor predictivo positivo 80%[4].

En un estudio realizado en diciembre del 2011 por el Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida (Cataluña), donde se estudiaron varios pacientes con sepsis en la unidad de cuidados intensivos, estudio que tenía como objetivo la correlación entre la PCR y los leucocitos arroja resultados que pueden ser independientes cualquiera de estos dos marcadores en su elevación, es decir no necesariamente en leucocitosis hay aumento de la proteína C reactiva o viceversa.

4.9 EVALUACIÓN DE LA INDICACIÓN DE LA TERAPIA ANTIBIÓTICA

Distintos estudios han demostrado la ventaja del tratamiento guiado por la procalcitonina a la hora de evitar la prescripción innecesaria de antibióticos o la duración excesiva de la antibioticoterapia. Así, las infecciones respiratorias son tratadas mayoritariamente con antibióticos a pesar de que su etiología es predominantemente vírica. Christ-Crain y cols, llevaron a cabo un estudio en pacientes que llegaron a un Servicio de Urgencias con neumonía adquirida en la comunidad en el que relacionaron las concentraciones de procalcitoninacon la terapia antibiótica. Concluyeron que la procalcitoninapuede ayudar a diferenciar a los pacientes con infecciones del tracto respiratorio inferior que requieren tratamiento antibiótico.

La estrategia terapéutica basada en la procalcitonina puede reducir notablemente el uso de los antibióticos, con efectos beneficiosos sobre la resistencia

antimicrobiana, las reacciones adversas en los pacientes y los costes. No obstante, son necesarios más ensayos clínicos orientados a confirmar y garantizar la utilidad de la procalcitoninaen la monitorización de la terapia antibiótica.

Kopterides P, Siempos I, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Crit Care Med 2010; 38:2229-2241

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio es de tipo descriptivo, tipo Clínico

ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se llevó a cabo en los servicios de Medicina Interna, Cirugía, y la Unidad de Terapia Intensiva del Northospital de la ciudad de Quito.

UNIVERSO Y MUESTRA

El universo del presente estudio investigativo son todos los pacientes que han ingresado a los servicios de Medicina Interna, Terapia Intensiva y Cirugía General, con diagnósticos de infección y sepsis en las edades comprendidas entre los 18 y 90 años de edad.La muestra son todos aquellos pacientes en los que se realizó Proteína C Reactiva y Procalcitonina

5.2 TÉCNICA DE ESTUDIO

Instrumentos: Historia Clínica, Exámenes de Laboratorio, Biometría Hemática: leucocitos y plaquetas, Proteína C Reactiva y Procalcitonina

5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

5.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

a. Pacientes hospitalizados en el Servicio de Medicina Interna, Terapia Intensiva y Cirugía General, a los cuales se les realizo proteína C reactiva y Procalcitonina al momento de ser diagnosticados de un proceso infeccioso y/o sepsis en el período

b. Pacientes de género Masculino y Femenino en edades comprendidas entre 18 y 90 años de edad.

c. Pacientes que previamente no hayan recibido antibioticoterapia

d. Pacientes en el posoperatorio inmediato.

e. Pacientes con Diabetes Mellitus e Hipertensión Arterial

5.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

a. Pacientes con enfermedades reumatológicas y/o autoinmunes, o con cáncer

b. Pacientes que se encuentren recibiendo corticoideoterapia y/o presenten inmunosupresión por enfermedad (VIH)

c. Pacientes en edad pediátrica, o mujeres en gestación

5.4 CRITERIOS DE EVALUACIÓN:

Se evaluó la capacidad predictiva (validación)

- Tamaño de la muestra
- Métodos gráficos
- Análisis estadísticos

5.5 PROCEDIMIENTO

El procedimiento utilizado para el presente estudio será por medio de:

- Solicitud de autorización dirigida a la Gerencia General del Northospital de la ciudad de Quito, para la autorización de recolección de datos de historias clínicas y de laboratorio, en el tiempo establecido en el estudio señalado.
- La recolección de los datos será mediante revisión de historias clínicas dentro de la cual se valorarálas indicaciones médicas, prescripciones médicas, sobre todo antibioticoterapia requerida. Resultados de laboratorio como Biometría Hemática, proteína C reactiva, Procalcitonina y Cultivos.

5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó recopilando información de historias clínicas, resultados de laboratorio, para luego ingresarlo a un software estadístico, realizar tablas y gráficoscomo el "Statistical Product and Service Solutions" (SPSS) y el software EPI INFO versión 3.4.2

5.7 OPERALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION	INDICADOR	ESCALA
Infección	Término clínico que indica la contaminación, con respuesta inmunológica y daño estructural de un hospedero, causada por un microorganismopató geno	Biometría Hemática, Proteína C Reactiva Anamnesis	Leucocitos: 4500 a 10 000 x mm3 Neutrofilos: 40 a 60% PCR: < 10 mm
Sepsis	Se conoce como sepsis al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) provocado por una infección, generalmente grave	Anamnesis Biometría Hemática, Procalcitonina	Leucocitos: 4500 a 10 000 x mm3 Neutrofilos: 40 a 60% PROCALCITONINA: < 0.5 Bajo Riesgo de Sepsis

			PROCALCITONINA: > 2 Alto Riesgo de Sepsis
SIRS	De sus Siglas en Inglés que significa: Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.	Signos Vitales, Biometría Hemática (Leucocitos)	-Temperatura < 36°C > 38°C. -Frecuencia Cardiaca > 90 lpm. -Frecuencia Respiratoria > 20 rpm. PaCO2 < 32 mmHg. -Recuento leucocitario > 12.000 mm3 < 4.000 mm3 > 10% de cayados.
PROTEINA C REACTIVA	PCR de sus siglas Proteína C Reactiva, es segregada en el hígado cuando hay una inflamación aguda, infección o degradación tisular en el organismo.	Prueba de Laboratorio. Reactante de Fase Aguda PCR	PCR < 10 mm
PROCALCITONINA	Procalcitonina: Marcador utilizado como predictor de sepsis	Test de Laboratorio.	PROCALCITONINA: < 0.5 Bajo Riesgo de Sepsis

			PROCALCITONINA: > 2 Alto Riesgo de Sepsis
Leucocitos	Formas celulares, constituyentes del sistema inmunológico, se dividen en neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos. Indican Infección	Biometría Hemática	Leucocitos: 4500 a 10 000 x mm3 Neutrofilos: 40 a 60%
Plaquetas	Formas Celulares, capaces de crear un tapón hemostático primario, es decir, participan en la hemostasia primaria y secundaria de la coagulación. Marcadores indirectos de inflamación.	Biometría Hemática	150 000 a 450 000 x mm3
Género de los pacientes con infección y/o sepsis más afectados	Condición biológica que distingue al macho de la hembra de la especie humana.	Información descrita en la historia clínica	Masculino Femenino

5.8 METODOLOGÍA

El método de estudio empleado fue el descriptivo de tipo clínico, obteniendo información de serie de casos clínicos que me permitió determinar una población estadística según las variables empleadas en este estudio utilizando la Curva ROC del acrónimo **Receiver Operating Characteristic**, o Característica Operativa del Receptor en español con el fin de obtener datos estadísticos de sensibilidad y especificidad del estudio.

6. RESULTADOS

6.1 UNIVERSO DEL ESTUDIO

El universo del presente estudio son todos los pacientes que han ingresado a 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 a los 90 años de edad, los cuales han sido definidos en 76 pacientes.

6.2 MUESTRA DEL ESTUDIO

La muestra del presente estudio ha sido calculada con la siguiente fórmula:

$$n=(z^2 P (1-P))/d^2$$

6.2.1*TABLA I*. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Intervalo de confianza	Coeficiente	Precisión absoluta
80%	1,282	0,20
90%	1,645	0,10
95%	1,960	0,05
99%	2,576	0,01

Prevalencia	P	1-P	P(1-P)
100%	1	0	0
90%	0,9	0,1	0,09
80%	0,8	0,2	0,16
70%	0,7	0,3	0,21
60%	0,6	0,4	0,24
50%	0,5	0,5	0,25
s40%	0,4	0,6	0,24
30%	0,3	0,7	0,21
20%	0,2	0,8	0,16
10%	0,1	0,9	0,09
0%	0	1	0

n= 384

N ajustada= ((Población o universo x n)/(población o universo + n)

N ajustada= (77 x 384)/(77 + 384)

N ajustada= 63

Para una mejor discriminación de los resultados en éste estudio se utilizó la Curva ROC del acrónimo Receiver Operating Characteristic, o Característica Operativa del Receptor en español con el fin de obtener datos estadísticos de sensibilidad y especificidad entre la proteína C reactiva y procalcitonina.

6.2.2*TABLA II.* PACIENTES ESTUDIADOS

PATOLOGÍA	NÚMERO INDIVIDUOS	%
SÉPSIS	26	41.3
SIRS	37	58.7
TOTAL	63	100

El presente estudio se realizó con una población de 63 pacientes, de los cuales fueron clasificados de acuerdo a su clínica a 26 presentan un cuadro de sepsis (41.3 %) y 37 presentan un cuadro de SIRS (58.7%)

6.2.3. TABLA III. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PROTEÍNA C REACTIVA EN EL ESTUDIO REALIZADO

			%
Sensibilidad	**Se**	**0.846**	**84.6**
Especificidad	**Sp**	**0.351**	**35.1**
			0.0
Valor Predictivo Positivo	**VPP**	**0.478**	47.8
Valor Predictivo Negativo	**VPN**	**0.765**	76.5
Prevalencia real	**P**	**229.621**	

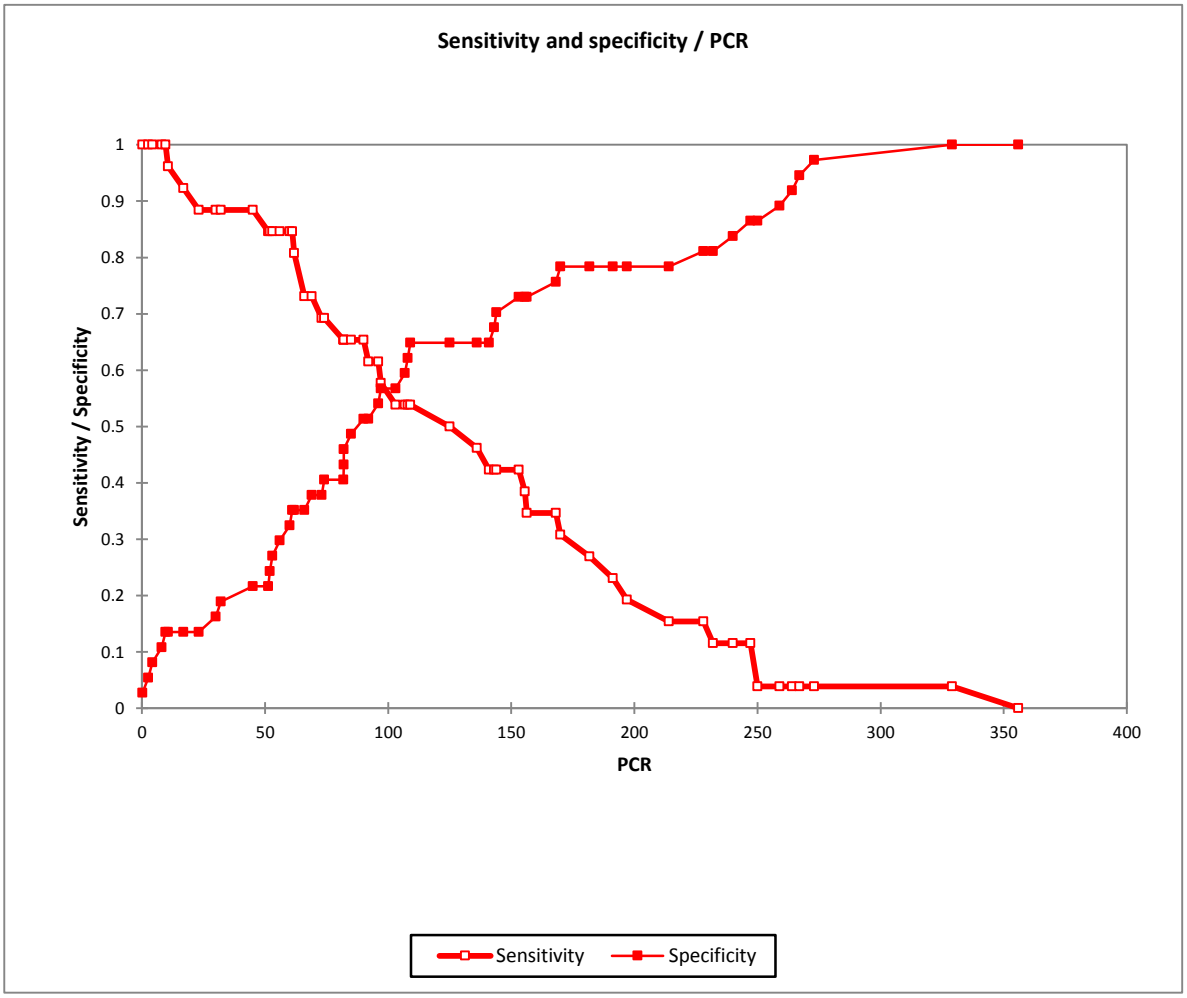
Elaborado por: Rafael Poma Valdivieso
2015. Software SPSS

6.2.3.4 TABLA IV. VALOR DEL ODDS RATIO (RAZON DE PROBABILIDAD) Y VALOR DE "P"

Odds ratio	3
95 % CI:	**0.8441 a 10.5153**
z statistic	1,697
Significance level	**P = 0.0898**
Elaborado por: Rafael Poma Valdivieso 2015. Software SPSS	

De la Tabla IV: Los pacientes que tienen valores positivos de la proteína C reactiva tiene alrededor de 3 veces más riesgo de tener sepsis que los pacientes con valores negativos de la proteína C reactiva, pero al contrario de los valores obtenidos en la procalcitonina valor p>0,05 por lo tanto los valores de la proteína C reactiva para sepsis no son significativos, por lo tanto valores altos o bajos no discriminan a un paciente con sepsis. El Valor de P no rechaza la hipótesis nula, entendiéndose de que la proteína C reactiva no es superior a la procalcitonina para probabilidad diagnóstica de sepsis.

6.3. PUNTO DE CORTE DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

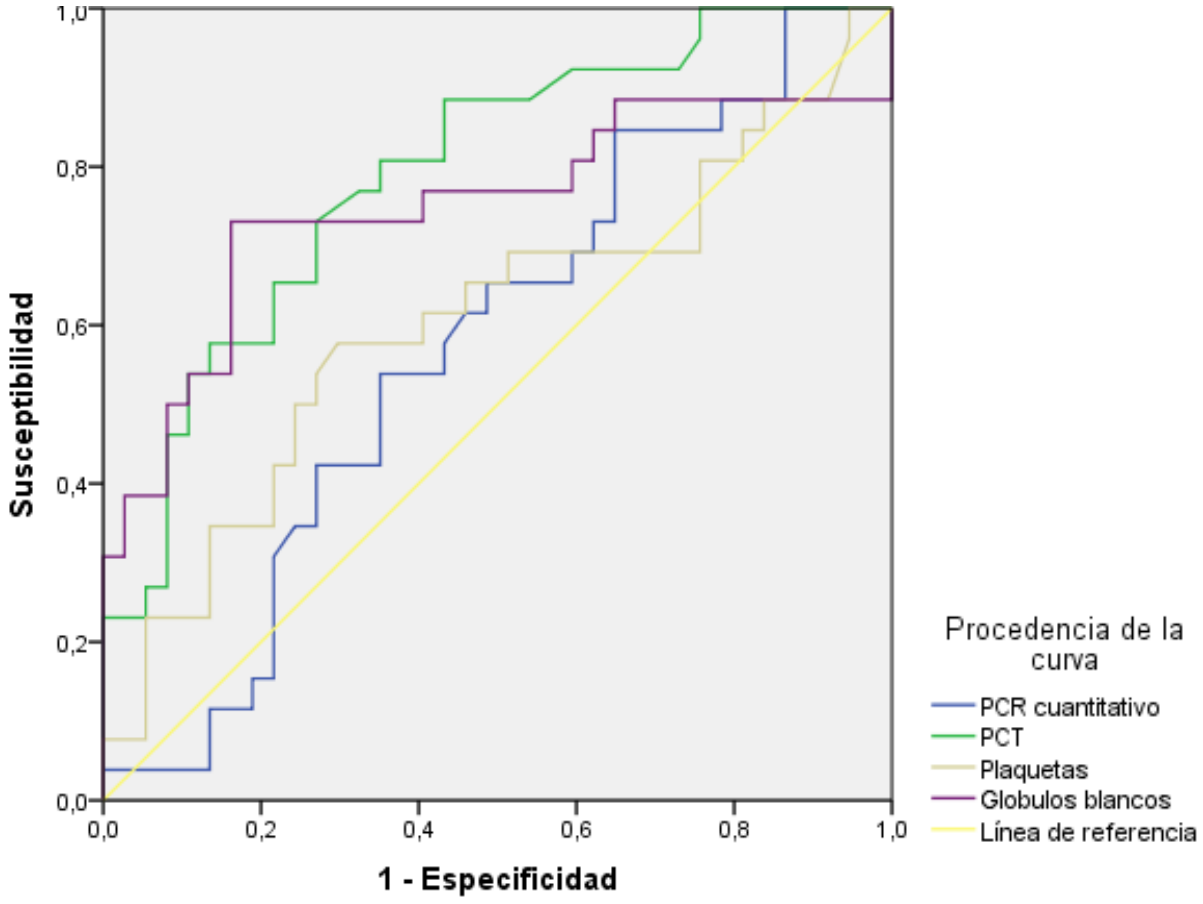


Los puntos de corte óptimos obtenidos a partir de la curva ROC, para la PCR se pudieron evaluar dos puntos significativos 97 mg/L presenta una sensibilidad de 58 %, especificidad del 57 %, VPP 48 % y VPN 66 % y 181 mg/L presenta una sensibilidad de 31% y especificidad del 78%, VPP 50% y VPN 62%.

6.3.1 CURVA DE CARACTERÍSTICAS OPERATIVAS DEL RECEPTOR (ROC)

De los datos de biomarcadores realizados a los pacientes y separados según los criterios de sépsis se realizó la evaluación de la eficiencia diagnóstica (criterio de validez) de la proteína C reactiva y procalcitonina para el diagnóstico de sepsis mediante la curva ROC. También se introdujo en la curva variables como el recuento de los glóbulos blancos y plaquetas.

6.3.2 CURVA ROC: SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO



Elaborado por: Rafael Poma Valdivieso
2015. Software SPSS

De la gráfica se obtuvo entre otros hallazgos la siguiente información:

BIOMARCADOR	ÁREA BAJO LA CURVA	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
PCR cuantitativo	.575	.432	.717
PROCALCITONINA	.794	.682	.905
Plaquetas	.608	.459	.756
Glóbulos blancos	.751	.613	.888
Elaborado por: Rafael Poma Valdivieso **2015 Software SPSS**			

En la Curva COR, se muestra que el punto más cercano a 100% es la procalcitonina y glóbulos blancos, lo que indica que dichas variables tiene una mejor sensibilidad y especificidad para catalogar sepsis, frente a la proteína C reactiva y a las plaquetas.

6.3.3CUADRO DE COMPARACIÓN DE SEPSIS CON EL PUNTO DE CORTE DE PROTEÍNA C REACTIVA OBTENIDO

		SEPSIS			
		Negativo		Positivo	
		Recuento	% del N de la columna	Recuento	% del N de la columna
PCR cuantitativo (agrupado)	<= 60,00	12	32,4%	4	15,4%
	(60,01 - 97,00]	9	24,3%	7	26,9%
	(97,01 - 181,74]	8	21,6%	8	30,8%
	>181,75	8	21,6%	7	26,9%

Del cuadro citado podemos mencionar que el punto de corte para la proteína C reactiva con mayor porcentaje (30.8%) en el estudio realizado, se encuentra entre 97 y 181 mg/dl en los pacientes diagnosticados de sepsis.

7. DISCUSIÓN

Los procesos infecciosos son una de las causas más comunes de consulta e ingreso hospitalario, por lo tanto se requiere de un control estricto, monitoreo de la gravedad de la infección y discriminación ante un proceso inflamatorio, con el fin de iniciar oportunamente el manejo antibiótico respectivo de ser el caso. Es por esto que se requiere de un biomarcador con la mejor sensibilidad y especificidad para determinar si un proceso es infeccioso o inflamatorio y el riesgo de sepsis que éste podría acarrear, por lo tanto en el estudio presentado se buscó identificar que un solo biomarcador sea el responsable de determinar los parámetros antes mencionados, con el fin de optimizar recursos, ya que no en todas las instituciones de salud se cuenta con biomarcadores de más alto nivel como la Procalcitonina.

Entre los resultados de mayor relevancia se demuestra que los pacientes que tienen valores positivos de la proteína C reactiva tiene alrededor de 3 veces más riesgo de tener sepsis que los pacientes con valores negativos de la proteína C reactiva (OR), pero al contrario de los valores obtenidos en la procalcitonina valor $p>0,05$ por lo tanto los valores de la proteína C reactiva para sepsis no son significativos, por lo tanto valores altos o bajos no discriminan a un paciente con sepsis. El Valor de P no rechaza la hipótesis nula, entendiéndose de que la proteína C reactiva no es superior a la procalcitonina para probabilidad diagnóstica de sepsis ya que el valor de P en el estudio realizado es de 0.089 sobrepasa el valor alfa.

En éste estudio se toma como muestra a todos los pacientes que cumplen los criterios de inclusión y exclusión y se les determinó sepsis clínica y analíticamente, a dicha muestra se les realizó biometría hemática con el fin de determinar el punto de corte de leucocitos y plaquetas (marcador indirecto de inflamación) además de procalcitonina por el método de inmunoensayo, y compararlo con la proteína C reactiva obtenida de estos pacientes durante su

proceso de sepsis y establecer un punto de corte delaproteína c reactivaen relación a la procalcitonina. Estos resultados con un universo de 76 pacientes de los cuales el 56% de éstos presentaron criterios de sepsis y un 41% criterios de SIRS, de éstos el mayor número de pacientes con sepsis fue el género femenino un 60% y el 40% restante fue el género masculino. Lo valores de procalcitonina más altos fueron en el género masculino con rango de 9.57ng/ml, y de 3.46 ng/ml en mujeres; los valores de proteína C reactiva en estos pacientes fueron de 106.90 para el género masculino y del 154.82 para el génerofemenino, es decir en nuestro estudio los resultados más altos de proteína c reactiva son para el género femenino y de procalcitonina para el género masculino. en el estudio también se determinó por grupo etario la respuesta ante la sepsis con valores de procalcitonina con un punto de corte de 8.40 en pacientes menores de 53 años, en cambio el proteína c reactiva se observa en rangos mayores en paciente de más de 85 años de edad con un proteína c reactivade 180.73 mg/dl. Ya en la curva COR el biomarcador de mayor sensibilidad y especificidad para sepsis sigue siendo la Procalcitonina demostrado en nuestro resultado con la elevación más alta en la curva, seguidos de los glóbulos blancos y plaquetas seguidamente. El Rango más alto de proteína c reactivaen nuestro estudio estuvo comprendido entre 97,01 - 181,74 en el 30-8% de pacientes estudiados con sepsis.

Entre estudios similares encontrados en revistas electrónicas tenemos un estudio de cohorte s como el realizado por galenos de la Facultada de Medicina de la Universidad Católica de Valencia España, en donde se compara a la proteína C reactiva, Interlukin 6 y procalcitonina como factores predictivos de falla multiorganica, en donde la procalcitonina y la proteína C reactiva no son estadísticamente significativos no así la interlukina 6.

Estudios en neonatos realizados en una unidad de terapia intensiva neonatal en América del Sur, específicamente en Argentina, se demuestra que el aclaramiento de proteína al tercer día de hospitalización con adecuado manejo de

antibioticoterapia es un factor predictivo de una menos mortalidad y menor estancia hospitalaria.

Entre otros estudios publicados en una revista electrónica de la editorial Elsevier, se concluye que la procalcitonina y la interleucina 6, son hasta el momento los principales biomarcadores para el diagnóstico de sepsis y de síndrome de respuesta inmune.

Todos los estudios realizados sus resultados fueron dados a través de la curva COR, similar al estudio presentado ésta investigación.

8. CONCLUSIONES

Al término del estudio se puede concluir que:

1. La procalcitonina sigue siendo el biomarcador con mayor sensibilidad y especificidad para pronóstico de sepsis.

2. La proteína C reactiva aun en rangos mayores de 100 mg/dl no es un marcador predictivo de sepsis sino inflamatorio como se le viene utilizando actualmente.

3. La respuesta inmunológica de acuerdo al estudio presentado mediado por proteína c reactiva es más notoria en el género femenino, en donde los rangos más altos de proteína c reactiva se encuentra en éste género, en contraste la procalcitonina los rangos más altos fueron en el género masculino.

4. La Procalcitonina a más de ser un biomarcador pronóstico de sepsis puede ser utilizado como monitor de la respuesta antibiótica instaurada.

9. RECOMENDACIONES

Al personal médico que hace uso de los biomarcadores se recomienda:

1. Categorizar a la sepsis con sus respectivos criterios clínicos y analíticos ademas utilizar la procalcitonina como biomarcador temprano de sepsis.
2. Se recomienda usar proteína C Reactiva como biomarcador inflamatorio mas no como marcador predictivo de sepsis de acuerdo a nuestros resultados.
3. Continuar realizando estudios con un mayor universo para identificar posibles cambios entre laproteína c reactiva y procalcitonina en pacientes con sepsis.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez JA, Mensa Pueyo J. Problemas especiales en enfermedadesInfecciosas. En: Farreras-
Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2543-2545.

2. Selberg,O MD; Hecker,S PhD; Martin, M. PhD; Klos,A MD; Bautsch, W. MD, PhD; Köhl, J. MD. Discrimination of sepsis and systemic inflamatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrtions of procalcitonin, protein complement 3ª, and interleukin-6. Crit Care Med 2000; 28, 8, 2793-2798

3. Moldawer LL, Lowry SF. Interactions among proinflammatory cytokines and the classic-endocrine system in sepsis and inflammatorion. En: Kinney JM, Tucker HN, eds. Organ Metabolism and Nutrition: Ideas for future Critical Care. New York: Raven Press Lted, 2006; 119-136

4. Madoff L, Kasper D. Consideraciones básicas. Introducción a las enfermedades infecciosas: Interacciones entre el hospedador y el parásito. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna,
16ª, ed. McGraw-Hill.Interamericana. 2006: 905-919.

5. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A pospective study. JAMA 2005; 273: 117-123.

6. Torrabadella de Reinoso P, Jiménez Pérez M. Sepsis y shock séptico. En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2545-2552.

7. Munford R. Sepsis y shock séptico. En: Harrison (eds) Principios de Medicina Interna, 16ª ed. McGraw-Hill.Interamericana. 2006: 946-952.

8. Cardona Iglesias P.J, Pujol-Borrell R, Auxina Ruiz V. Patogenia de las enfermedades infecciosas.
En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2189-2195.

9. Vaqué Rafart R. Epidemiología de las enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds)

Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2196-2200.

10. Jiménez de Anta Losada MT, Vila Estapé J. Diagnóstico de las enfermedades infecciosas. En: Farreras-Rozman (eds) Medicina Interna, 15ª ed. Elsevier. 2005: 2200-2202.
11. Abraham E. Effects of recombinant human activated protein C in human models of endotoxin administration. Proc Am Thorac Soc 2005; 2: 243-247.
12. Jones AE, Flechtl JF, Brown MD, Ballew JJ, Kline JA. Procalcitonin test in the diagnosis of bacteremia: a meta-analysis. Annals of Emergency Medicine 2007; 50:34-41
13. Dorizzi RM, Polati E, Sette P, Ferrari A, Rizzotti P, Luzzani A. Procal- citonin in the diagnosis of inflammation in intensive care units. Clinical Biochemistry 2006; 39:1138-4
14. Phua J, Koay ES. Lee KH. Lactate, procalcitonin, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide versus cytokine measurements and clinical severity scores for prognostication in septic shock. Shock 2008; 29:328-333.
15. Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. J Crit Care. 2009;24:318-2.163. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis and.
18. Kopterides P, Siempos I, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Crit Care Med 2010; 38:2229-2241.
19. http://www.microbial-systems.com. Newsletter Núm. 5 Mayo- Agosto de 2009
20. http://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=79602. Procalcitonina como biomarcador | 15 ABR 2013
21. http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica Enferm Infecc Microbiol Clin. 2014;32(3):177–190
22. http://www.microbial-systems.com/web/docs/Newsletter_Microbial_05.pdf

11. ANEXOS

Coordenadas de la curva					
Variables resultado de contraste	Valor de la prueba	Sensibilidad	1 - Especificidad	C/B	Pendiente
PROTEÍNA C REACTIVA cuantitativo	-,8400	1,000	1,000	1,000	1,000
	1,3300	1,000	,973	0,000	0,500
	3,3550	1,000	,946	0,000	0,333
	6,1100	1,000	,919	0,000	0,250
	8,8100	1,000	,892	0,000	0,200
	10,1250	1,000	,865	0,000	0,167
	13,7700	,962	,865	0,000	0,143
	19,9800	,923	,865	0,000	0,125
	26,5300	,885	,865	0,000	0,111
	31,0000	,885	,838	0,000	0,100
	38,5000	,885	,811	0,000	0,091
	48,1500	,885	,784	0,000	0,083
	51,6000	,846	,784	0,000	0,077
	52,4500	,846	,757	0,000	0,071
	54,5000	,846	,730	0,000	0,067
	58,0000	,846	,703	0,000	0,063
	60,5000	,846	,676	0,000	0,059
	61,3750	,846	,649	0,000	0,056
	63,8750	,808	,649	0,000	0,053
	67,5000	,731	,649	0,000	0,050
	71,0000	,731	,622	0,000	0,048
	73,5000	,692	,622	0,000	0,045
	77,9000	,692	,595	0,000	0,043
	81,8950	,654	,595	0,000	0,042
	81,9950	,654	,568	0,000	0,040
	83,5000	,654	,541	0,000	0,038
	87,5000	,654	,514	0,000	0,037

	91,0000	,654	,486	0,000	0,036
	94,0000	,615	,486	0,000	0,034
	96,5000	,615	,459	0,000	0,033
	100,0000	,577	,432	1,423	0,078
	104,8750	,538	,432	0,000	0,076
	107,3750	,538	,405	0,000	0,073
	108,5000	,538	,378	0,000	0,071
	117,0000	,538	,351	0,000	0,069
	130,5000	,500	,351	0,000	0,067
	138,4900	,462	,351	0,000	0,065
	141,9900	,423	,351	0,000	0,064
	143,5000	,423	,324	0,000	0,062
	148,5000	,423	,297	0,000	0,061
	154,2450	,423	,270	0,000	0,059
	155,9250	,385	,270	0,000	0,058
	162,2350	,346	,270	0,000	0,056
	169,0550	,346	,243	0,000	0,055
	175,8700	,308	,216	1,423	0,085
	186,5300	,269	,216	0,000	0,084
	194,1600	,231	,216	0,000	0,082
	205,5000	,192	,216	0,000	0,080
	221,0000	,154	,216	0,000	0,078
	230,0000	,154	,189	0,000	0,077
	236,0000	,115	,189	0,000	0,075
	243,6050	,115	,162	0,000	0,074
	248,6050	,115	,135	0,000	0,073
	254,5000	,038	,135	0,000	0,071
	261,5000	,038	,108	0,000	0,070
	265,5000	,038	,081	0,000	0,069
	270,0000	,038	,054	0,000	0,067
	301,0000	,038	,027	0,000	0,066
	342,5000	,038	0,000	0,000	0,065
	357,0000	0,000	0,000	0,000	0,064
PROCALCITONINA	-,9500	1,000	1,000	1,000	1,000

	,0550	1,000	,919	0,000	0,500
	,0650	1,000	,865	0,000	0,333
	,0750	1,000	,811	0,000	0,250
	,0850	1,000	,757	0,000	0,200
	,0950	,962	,757	0,000	0,167
	,1050	,923	,730	1,423	0,346
	,1150	,923	,703	0,000	0,303
	,1250	,923	,676	0,000	0,269
	,1350	,923	,622	0,000	0,242
	,1450	,923	,595	0,000	0,220
	,1550	,885	,541	0,712	0,261
	,1650	,885	,514	0,000	0,241
	,1850	,885	,486	0,000	0,224
	,2050	,885	,459	0,000	0,209
	,2200	,885	,432	0,000	0,196
	,2350	,808	,432	0,000	0,184
	,2500	,808	,378	0,000	0,174
	,3050	,808	,351	0,000	0,165
	,3600	,769	,351	0,000	0,157
	,3800	,769	,324	0,000	0,149
	,4100	,731	,270	0,712	0,175
	,4850	,692	,270	0,000	0,167
	,5450	,654	,270	0,000	0,160
	,5950	,654	,243	0,000	0,154
	,6450	,654	,216	0,000	0,148
	,6850	,615	,216	0,000	0,142
	,7250	,577	,216	0,000	0,137
	,7700	,577	,189	0,000	0,133
	,8350	,577	,162	0,000	0,128
	,8650	,577	,135	0,000	0,124
	,9250	,538	,135	0,000	0,120
	,9900	,538	,108	0,000	0,117
	1,1350	,500	,108	0,000	0,113
	1,2800	,462	,108	0,000	0,110

	1,6150	,462	,081	0,000	0,107
	1,9500	,423	,081	0,000	0,104
	2,8050	,385	,081	0,000	0,101
	3,7250	,346	,081	0,000	0,099
	3,8800	,308	,081	0,000	0,096
	4,1300	,269	,081	0,000	0,094
	4,9200	,269	,054	0,000	0,092
	5,6800	,231	,054	0,000	0,089
	6,0950	,231	,027	0,000	0,087
	6,5150	,231	0,000	0,000	0,085
	8,3350	,192	0,000	0,000	0,084
	10,4550	,154	0,000	0,000	0,082
	14,2500	,115	0,000	0,000	0,080
	22,1400	,077	0,000	0,000	0,078
	42,0450	,038	0,000	0,000	0,077
	58,4100	0,000	0,000	0,000	0,075
Plaquetas	88,00000	1,000	1,000	1,000	1,000
	90,50000	1,000	,973	0,000	0,500
	100,50000	1,000	,946	0,000	0,333
	114,00000	,962	,946	0,000	0,250
	119,50000	,885	,919	2,846	0,769
	123,00000	,885	,892	0,000	0,641
	128,00000	,885	,865	0,000	0,549
	135,00000	,885	,838	0,000	0,481
	143,00000	,846	,838	0,000	0,427
	148,50000	,846	,811	0,000	0,385
	152,50000	,808	,811	0,000	0,350
	154,50000	,808	,784	0,000	0,321
	156,00000	,808	,757	0,000	0,296
	157,50000	,769	,757	0,000	0,275
	160,00000	,731	,757	0,000	0,256
	164,50000	,692	,757	0,000	0,240
	169,00000	,692	,730	0,000	0,226
	172,50000	,692	,703	0,000	0,214

	177,00000	,692	,676	0,000	0,202
	181,00000	,692	,649	0,000	0,192
	184,50000	,692	,622	0,000	0,183
	190,00000	,692	,595	0,000	0,175
	195,50000	,692	,568	0,000	0,167
	201,50000	,692	,541	0,000	0,160
	208,50000	,692	,514	0,000	0,154
	216,50000	,654	,514	0,000	0,148
	224,50000	,654	,486	0,000	0,142
	232,50000	,654	,459	0,000	0,137
	237,50000	,615	,459	0,000	0,133
	239,00000	,615	,432	0,000	0,128
	245,50000	,615	,405	0,000	0,124
	257,50000	,577	,405	0,000	0,120
	266,50000	,577	,378	0,000	0,117
	270,50000	,577	,351	0,000	0,113
	272,50000	,577	,324	0,000	0,110
	274,50000	,577	,297	0,000	0,107
	277,00000	,538	,270	1,423	0,142
	280,50000	,500	,270	0,000	0,139
	283,50000	,500	,243	0,000	0,135
	286,50000	,462	,243	0,000	0,132
	296,00000	,423	,243	0,000	0,129
	304,00000	,423	,216	0,000	0,125
	307,00000	,385	,216	0,000	0,123
	314,50000	,346	,216	0,000	0,120
	321,00000	,346	,189	0,000	0,117
	325,00000	,346	,162	0,000	0,115
	330,00000	,346	,135	0,000	0,112
	334,50000	,308	,135	0,000	0,110
	337,50000	,269	,135	0,000	0,108
	339,00000	,231	,135	0,000	0,105
	342,00000	,231	,108	0,000	0,103
	356,50000	,231	,081	0,000	0,101

	371,00000	,231	,054	0,000	0,099
	374,50000	,192	,054	0,000	0,098
	392,50000	,154	,054	0,000	0,096
	409,50000	,115	,054	0,000	0,094
	419,00000	,077	,054	0,000	0,092
	483,00000	,077	,027	0,000	0,091
	553,50000	,077	0,000	0,000	0,089
	599,00000	,038	0,000	0,000	0,088
	630,00000	0,000	0,000	0,000	0,086
Globulos blancos	1,3000	1,000	1,000	1,000	1,000
	2,6400	,962	1,000	0,000	0,500
	3,7950	,923	1,000	0,000	0,333
	5,0550	,885	1,000	0,000	0,250
	5,5650	,885	,973	0,000	0,200
	5,7450	,885	,946	0,000	0,167
	5,9300	,885	,919	0,000	0,143
	6,0350	,885	,892	0,000	0,125
	6,1850	,885	,865	0,000	0,111
	6,3450	,885	,838	0,000	0,100
	6,4100	,885	,811	0,000	0,091
	6,6650	,885	,757	0,000	0,083
	6,9100	,885	,730	0,000	0,077
	7,1400	,885	,703	0,000	0,071
	7,5500	,885	,676	0,000	0,067
	7,8950	,885	,649	0,000	0,063
	8,1600	,846	,649	0,000	0,059
	8,4300	,846	,622	0,000	0,056
	8,7400	,808	,622	0,000	0,053
	8,9900	,808	,595	0,000	0,050
	9,1100	,769	,595	0,000	0,048
	9,1700	,769	,568	0,000	0,045
	9,3000	,769	,541	0,000	0,043
	9,4850	,769	,514	0,000	0,042
	9,6200	,769	,486	0,000	0,040

	9,7200	,769	,459	0,000	0,038
	9,8150	,769	,432	0,000	0,037
	9,8650	,769	,405	0,000	0,036
	9,9050	,731	,405	0,000	0,034
	9,9800	,731	,378	0,000	0,033
	10,0450	,731	,351	0,000	0,032
	10,2050	,731	,324	0,000	0,031
	10,4350	,731	,297	0,000	0,030
	10,8550	,731	,270	0,000	0,029
	11,3850	,731	,243	0,000	0,029
	11,7650	,731	,216	0,000	0,028
	12,0900	,731	,189	0,000	0,027
	12,5350	,731	,162	0,000	0,026
	12,9250	,692	,162	0,000	0,026
	13,2400	,654	,162	0,000	0,025
	13,6100	,615	,162	0,000	0,024
	13,9350	,577	,162	0,000	0,024
	14,3050	,538	,162	0,000	0,023
	14,5100	,538	,135	0,000	0,023
	15,0050	,538	,108	0,000	0,022
	15,7550	,500	,108	0,000	0,022
	16,4000	,500	,081	0,000	0,021
	16,8000	,462	,081	0,000	0,021
	16,9200	,423	,081	0,000	0,020
	17,0200	,385	,081	0,000	0,020
	17,2200	,385	,054	0,000	0,020
	17,4800	,385	,027	0,000	0,019
	17,8650	,346	,027	0,000	0,019
	18,3700	,308	,027	0,000	0,019
	18,9300	,308	0,000	0,000	0,018
	19,9500	,269	0,000	0,000	0,018
	21,7150	,231	0,000	0,000	0,018
	23,0650	,192	0,000	0,000	0,017
	23,6900	,154	0,000	0,000	0,017

	26,8000	,115	0,000	0,000	0,017
	29,8900	,077	0,000	0,000	0,016
	43,2200	,038	0,000	0,000	0,016
	57,1800	0,000	0,000	0,000	0,016

Contenido

DEDICATORIA v

AGRADECIMIENTO vi

1. TÍTULO: 1

2. RESUMEN 2

3. INTRODUCCIÓN 4

4. REVISIÓN DE LITERATURA 6

CAPÍTULO 1 6

1.1 BIOMARCADORES COMO RESPUESTA DEL HUÉSPED 6

1.2 UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES 6

1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMARCADORES 6

1.3.1 PROTEÍNA C REACTIVA (PCR). 7

1.3.2 PROCALCITONINA 8

1.3.3 COMPLEMENTO. 17

1.3.4 DERIVADOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO: 18

1.3.5 MOLÉCULAS DE ADHESIÓN 18

1.3.6 CITOCINAS 18

1.3.7 FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR 19

CAPÍTULO 2 20

2.1 INFECCIÓN Y SEPSIS 20

2.1.1 INFECCIÓN 20

2.1.1.1 FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN 20

2.1.1.2 RECONOCIMIENTO DEL AGENTE PATÓGENO. ACTIVACIÓN DE LA CASCADA DE REACCIONES 21

2.1.1.3. Inmunidad natural 21

2.1.1.4 Inmunidad específica o adquirida 23

2.1.1.5 Inmunidad humoral 23

2.1.1.6 Inmunidad celular. 24

2.1.2 SISTEMAS Y MOLÉCULAS QUE INTERVIENEN EN LA RESPUESTA INMUNE 24

2.1.2.1 Fiebre 24

2.1.2.2 Sistema del complemento 25

2.1.2.3 Citocinas 26

2.1.2.4 Citocinas proinflamatorias 27

2.1.2.5 Citocinas antiinfamatorias 27

2.1.2.6 IL-1. 28

2.1.2.7 El TNF-alfa 29

2.1.2.8 Otras citocinas importantes son las siguientes: 29

2.1.2.9 Sistema hematopoyético 34

2.1.2.10 Marcadores de coagulación 39

CAPÍTULO 3 42

3.1 SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SRIS). 42
3.2 SEPSIS. 43
3.3 CHOQUE (SHOCK) SÉPTICO. 45
3.4 SÍNDROME DE DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA SECUNDARIA A SEPSIS (SDMO). 47
3.4.1 SDMO Primario: 47
3.4.2 SDMO Secundario: 47
3.5 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LAS INFECCIONES EN EL PACIENTE ADULTO 48
3.5.1 EDAD Y ESTADO INMUNOLÓGICO 48
3.5.2 PATOLOGÍAS SOBREAÑADIDAS: DIABETES E HIPERTENSIÓN ARTERIAL 49
3.5.3 HABITOS ALIMENTICIOS Y SEDENTARISMO 50
3.5.4 USO IRRACIONAL DE ANTIBIÓTICOS 51
3.5.5 CONTROL MÉDICO IRREGULAR E INEFICIENTE 52
3.5.6 INFECCIONES PREVALENTES EN LA EDAD ADULTA EN ECUADOR 53
CAPÍTULO 4 55
4.1 REACTANTES DE FASE AGUDA, PROTEÍNA C REACTIVA EN LAS INFECCIONES 55
4.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ELEVACIÓN DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (FALSOS POSITIVOS) 58
4.2.1 Falsos positivos debidos a la muestra 58
4.2.2 Falsos positivos debidos al sistema de detección de la proteína C reactiva (*primers* y sondas). 60
4.2.3 Falsos positivos debidos a la mayor selectividad y objetividad de los métodos basados en proteína C reactiva 61
4.3 MÉTODOS UTILIZADOS PARA LA MEDICIÓN DE LA PROTEINA C REACTIVA 61

4.4 COMPORTAMIENTO DE PROCALCITONINA EN LAS INFECCIONES Y OTRAS PATOLOGÍAS 61
4.5 INDICACIONES PARA LA MEDICIÓN DE LA PROCALCITONINA 62
4.6 MEDICIÓN DE LA PROCALCITONINA 64
4.6.1 Métodos de Detección 64
4.6.2 Métodos cuantitativos 65
4.6.3 Métodos Semicuantitativos 65
4.7 MONITORIZACIÓN DE LA INFECCIÓN Y CONTROL DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA 65
4.8 CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE PROCALCITONINA CON LOS DE PCR Y RECUENTO LEUCOCITARIO 67
4.9 EVALUACIÓN DE LA INDICACIÓN DE LA TERAPIA ANTIBIÓTICA 67
5. MATERIALES Y MÉTODOS 69
5.1 MÉTODOS 69
TIPO DE ESTUDIO 69
ÁREA DE ESTUDIO 69
UNIVERSO Y MUESTRA 69
5.2 TÉCNICA DE ESTUDIO 69
5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN 69
5.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN 69
5.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN 70
5.4 CRITERIOS DE EVALUACIÓN: 70
5.5 PROCEDIMIENTO 70
5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 71

5.7 OPERALIZACIÓN DE VARIABLES 71
5.8 METODOLOGÍA 74

6. RESULTADOS 75
6.1 UNIVERSO DEL ESTUDIO 75
6.2 MUESTRA DEL ESTUDIO 75
6.2.1*TABLA I*. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA 76
6.2.2*TABLA II.* PACIENTES ESTUDIADOS 77
6.3. PUNTO DE CORTE DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) 80
6.3.1 CURVA DE CARACTERÍSTICAS OPERATIVAS DEL RECEPTOR (ROC) 81
6.3.2 CURVA ROC: SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO 81
6.3.3CUADRO DE COMPARACIÓN DE SEPSIS CON EL PUNTO DE CORTE DE PROTEÍNA C REACTIVA OBTENIDO 83

7. DISCUSIÓN 84

8. CONCLUSIONES 87

9. RECOMENDACIONES 88

10. BIBLIOGRAFÍA 89

11. ANEXOS 91