



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE POSGRADOS
CLINICA RUIZ LABORATORIOS

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA CUANTIFICACIÓN DE α -1- GLICOPROTEÍNA ÁCIDA EN LA PREDICCIÓN DE SEPSIS

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALIDAD EN CIENCIAS DE LABORATORIO CLÍNICO

PRESENTA:

Q.F.B. Yessika Motolinia Muñoz

Puebla, Puebla.

Febrero 2018



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyla**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a mi amada familia, el principal pilar en mi vida y a quienes les debo todo lo que soy.

A mi mamá Yolanda, quien ha sido continuamente mi inspiración, quien siempre ha estado conmigo apoyándome y queriéndome de la manera más sublime. Dándome palabras y consejos que llevo conmigo en cada paso que doy.

A mi papá Mauricio, quien siempre supo encontrar motivos para sonreír. Deseo que estés feliz viéndonos cumplir poco a poco nuestros sueños, sueños que serán siempre compartidos y dedicados a ti y a mamá. Gracias papi por sembrarnos la semilla de la excelencia, porque “el que es perico, dondequiera es verde”.

A mi hermana Yanneth a quien admiro y adoro con todo mi corazón. Gracias por ser mi maestra desde que nací, por enseñarme que si uno se esfuerza puede lograr lo inimaginable.

A mi abuelito Epitacio quien ha sido un segundo padre para nosotras.

A mis amigas Adriana y Brizeida, mis compañeras de esta aventura, con quienes viví muchos momentos inolvidables en Laboratorios Ruiz.

A aquellas personas que conocí en el trayecto y que hicieron de esta etapa una de las mejores de mi vida.

...Gracias DIOS por tu presencia en todo momento...

“Para tener éxito, tus deseos de triunfar deberían de ser más grandes que tu miedo de fracasar.”

Bill Cosby

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Guillermo J. Ruiz Argüelles por su confianza, por darme la oportunidad de trabajar juntos en este proyecto, de aprender de él y asombrarme cada día con su inigualable sabiduría, por exigirme ser mejor cada día.

Agradezco al Dr. Daniel Arizpe Bravo y al Dr. José Flores Martínez por abrirme las puertas de su institución y poder llevar a cabo este estudio.

Agradezco a mis compañeros por compartir juntos momentos de conocimiento, aprendizaje, risas, angustias e incluso tristezas. Gracias por estar conmigo cuando más los necesité.

Agradezco a la familia Ruiz por haberme dado la oportunidad de ser orgullosamente parte del Laboratorios Ruiz.

Agradezco también a todos los químicos, doctores y maestros por sus valiosas enseñanzas a lo largo de estos tres años.

GRACIAS.

"El secreto del éxito en la vida de un hombre está en prepararse para aprovechar la ocasión cuando se presente."

Benjamin Disraeli

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Sepsis.....	4
2.2. Historia.....	4
2.3. Definiciones importantes en sepsis.....	4
2.4. Epidemiología.....	6
2.5. Incidencia en México.....	6
2.6. Mecanismos Fisiopatológicos.....	7
2.6.1. Infección sistémica.....	7
2.6.2. Disfunciones endoteliales, de coagulación y microcirculatoria.....	8
2.6.3. Liberación de óxido nítrico.....	8
2.6.4. Supresión del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.....	9
2.7. Diagnóstico.....	9
2.7.1. Criterios de sepsis.....	9
2.7.2. Parámetros generales.....	9
2.7.3. Parámetros inflamatorios.....	10
2.7.4. Parámetros hemodinámicos.....	10
2.7.5. Parámetros de disfunción orgánica.....	10
2.7.6. Parámetros de perfusión tisular.....	11
2.8. Biomarcadores.....	11
2.8.1. Procalcitonina.....	12
2.8.2. Proteína C reactiva.....	13
2.8.3. Lactato.....	13
2.8.4. α -1- glicoproteína ácida.....	14

2.9. Cultivos.....	15
2.9.1. Agentes etiológicos en sepsis.....	16
3. JUSTIFICACIÓN.....	17
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo General.....	19
4.2. Objetivos específicos.....	19
5. HIPÓTESIS.....	19
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
6.1. Pacientes.....	20
6.2. Métodos Analíticos.....	20
6.2.1. Muestreo y análisis de laboratorio.....	20
6.2.2. α -1- glicoproteína ácida.....	20
6.2.3. Procalcitonina.....	21
6.2.4. Hemocultivo.....	22
6.3. Análisis estadístico.....	22
7. RESULTADOS.....	24
8. DISCUSIÓN.....	33
9. CONCLUSIÓN.....	36
10. REFERENCIAS.....	37
11. LISTA DE FIGURAS.....	42
12. LISTA DE TABLAS.....	42

RESUMEN

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA CUANTIFICACIÓN DE α -1- GLICOPROTEÍNA ÁCIDA EN LA PREDICCIÓN DE SEPSIS

MOTOLINIA-MUÑOZ Y. (1-2), RUIZ-ARGÜELLES GJ. (1-3)

1) Laboratorios Clínicos de Puebla. Puebla, México, 2) Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Puebla, México, 3) Centro de Hematología y Medicina Interna. Puebla, México.

Introducción: La sepsis es una de las principales causas de muerte en el paciente crítico. Es una enfermedad heterogénea y con frecuencia es difícil hacer un diagnóstico inequívoco y expedito. El diagnóstico oportuno y preciso de la sepsis es fundamental para reducir la mortalidad. En ausencia de un estándar de oro adecuado para diagnosticar sepsis, ha habido un considerable y creciente interés en tratar de identificar biomarcadores adecuados; las herramientas con un alto valor predictivo negativo para excluir infección o bacteriemia son importantes para aumentar la rentabilidad de los exámenes microbiológicos y para evitar un tratamiento antibiótico inadecuado.

Objetivo: Evaluar la capacidad diagnóstica de la α -1-glicoproteína ácida (AGP) sérica como un nuevo biomarcador de sepsis y comparar su rendimiento con los niveles séricos de procalcitonina (PCT), tomando al hemocultivo como el estándar de oro.

Material y métodos: Se estudiaron a pacientes con sospecha diagnóstica de sepsis, reclutados en el periodo de abril de 2016 hasta agosto de 2017 de la Unidad de Cuidados Intensivos de un hospital privado de la ciudad de Puebla; se comparó el rendimiento de AGP sérica con los niveles séricos de PCT mediante índices como sensibilidad, especificidad, área bajo la curva, VPP y VPN.

Resultados: Encontramos en la población estudiada un valor de p de 0.049774, que plantea la asociación entre el Hemocultivo positivo y PCT, así como un valor de

p de 0.612616 que plantea la no asociación entre Hemocultivo positivo y AGP. Se obtuvo un VPP de PCT para Hemocultivos Positivos de 63% (IC 95% 29 a 96) y un VPN de 89% (IC 95% 68 a 100). Del mismo modo, se obtuvo un VPP de AGP para Hemocultivos Positivos de 36% (IC 95% 11 a 61) y un VPN de 83% (IC 95% 54 a 100). Para PCT se obtuvo un área bajo la curva de 0.804, una sensibilidad de 58.8% (32.9 - 81.6) y una especificidad de 100.0% (29.2 - 100.0). Para AGP se obtuvo un área bajo la curva de 0.594, una sensibilidad de 41.2% (18.4 - 67.1) y una especificidad de 100.0% (29.2 - 100.0).

Conclusiones: Nuestros hallazgos sugieren que la medición de los niveles séricos del biomarcador AGP, de acuerdo a su sensibilidad y especificidad, no es útil para poder establecer el diagnóstico de sepsis de forma precisa. Los resultados obtenidos en nuestro estudio no avalan la utilización de la PCT ni AGP como test único de diagnóstico precoz de la sepsis.

1. INTRODUCCIÓN

Se define como sepsis a la disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta disregulada del huésped a la infección; es una enfermedad heterogénea y con frecuencia es difícil hacer un diagnóstico inequívoco y expedito, por lo que es una de las principales causas de muerte en el paciente crítico tanto en México como a nivel mundial (2). El estándar de oro actual para diagnosticar la sepsis es el hemocultivo, pero solo está disponible después de un retraso significativo. Se ha demostrado que el diagnóstico rápido y el comienzo de las terapias apropiadas reducen la mortalidad (53).

Los biomarcadores podrían desempeñar un papel importante en el diagnóstico y la evaluación de la sepsis; sin embargo, el valor de éstos en el tratamiento de pacientes sépticos sigue siendo insatisfactorio (64,65).

En el presente trabajo se investigó la capacidad diagnóstica de la α -1-glicoproteína ácida sérica como un nuevo biomarcador en pacientes con sospecha de sepsis y se comparó su rendimiento con un parámetro inflamatorio clásico, la procalcitonina y con una prueba microbiológica, el hemocultivo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Sepsis

El término $\sigma\eta\psi\iota\zeta$ (sepsis) se origina del vocablo griego sepo que significa putrefacción. Dicho término se comenzó a utilizar mucho antes que se relacionara a la infección con los microorganismos. Ya en el modelo hipocrático de salud-enfermedad se habían usado los términos “pepsis” al hacer referencia a la digestión de alimentos y “sepsis” para referirse al fenómeno de putrefacción, con descomposición y formación de pus (1).

2.2 Historia

Antes de 1992 la definición de sepsis era confusa, incluso los términos infección, sepsis, septicemia y bacteremia se utilizaban como sinónimos. En 1992, con base en la revisión de Roger C Bone de las fases de la respuesta inflamatoria sistémica, el Colegio Americano de Tórax y la Sociedad de Medicina Crítica de Estados Unidos publicaron el consenso que definía a la sepsis y dieron el concepto de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, lo que permitió unificar criterios e iniciar las bases de la vigilancia y del tratamiento de la sepsis.

La introducción del concepto de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica permitió clasificar la respuesta en padecimientos no infecciosos, como traumatismos, quemaduras, pancreatitis, cirugías, entre otros, y los infecciosos, que le dio el nombre a la sepsis, con lo que se llegó a la conceptualización actualmente válida.

2.3 Definiciones importantes en sepsis

Bacteriemia

Bacterias en sangre (hemocultivo positivo).

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)

Respuesta sistémica a una gran cantidad de estímulos, manifestada por dos o más de los siguientes criterios:

1. Frecuencia cardíaca $>90/\text{min}$
2. Hiperventilación; frecuencia respiratoria $>20/\text{min}$ o PaCO_2 menor de 32 mmHg
3. Leucocitos $>12,000 \text{ mm}^3$, $< 4,000 \text{ mm}^3$ o $>10\%$ de bandas
4. Temperatura $>38^\circ\text{C}$ o $<36^\circ\text{C}$

Sepsis

Respuesta inflamatoria sistémica frente a la infección que puede generar una reacción inflamatoria generalizada que a la larga puede inducir disfunción orgánica múltiple.

Sepsis severa

Sepsis asociada con disfunción orgánica, hipoperfusión o anormalidades en la perfusión pueden incluir (pero no se limitan a) acidosis láctica, oliguria o alteraciones agudas en el estado mental.

Choque séptico

Hipotensión inducida por sepsis (tensión arterial sistólica $<90 \text{ mmHg}$ o reducción de 40 mmHg en relación con la basal) a pesar de la adecuada reanimación hídrica, con anormalidades en la perfusión que pueden incluir, pero no están limitadas, acidosis láctica, oliguria o alteración aguda del estado mental.

Disfunción orgánica múltiple

Función orgánica alterada en un paciente críticamente enfermo en el que la homeostasia no puede mantenerse sin intervención (2).

2.4 Epidemiología

La sepsis es una de las principales causas de ingreso y mortalidad en las unidades de cuidados intensivos (UCI) debido a múltiples factores, entre los que destacan el envejecimiento poblacional, el mayor número de procedimientos quirúrgicos e invasivos practicados cotidianamente y todas las afecciones asociadas con inmunodepresión, como la quimioterapia, la radioterapia y las enfermedades y situaciones que intrínsecamente se vinculan con la disfunción del sistema inmunitario. Es una de las pocas condiciones médicas que ataca por igual y con gran ferocidad tanto a poblaciones en zonas de escasos recursos como a las del mundo de altos ingresos.

A nivel mundial, se estima que entre 20 y 30 millones de pacientes son afectados por esta grave entidad. Cada hora, aproximadamente 1 000 personas y cada día alrededor de 24 000 pacientes mueren a causa de la sepsis en todo el mundo.

En el mundo de medianos y bajos ingresos, la sepsis representa 60 a 80% de pérdida de vidas en la infancia, con más de 6 millones de recién nacidos y niños afectados por esta entidad anualmente. Es responsable de más de 100 000 casos de muertes maternas cada año y, en algunos países, es ahora la mayor amenaza durante el embarazo (3).

2.5 Incidencia en México

El estudio de Carrillo et al. es el único que informa sobre el comportamiento de la sepsis en nuestro país. Realizaron un estudio multicéntrico, transversal, en el que incluyeron 135 UCI públicas y privadas de 24 estados de la República Mexicana; de los 49 957 internamientos anuales se presentaron 11 183 casos de sepsis (27.3 %), la mortalidad por esta causa fue de 30.4%. Casi 87% (2 953 pacientes) correspondió a unidades públicas, y 13% (449 pacientes) a unidades privadas. Las causas más frecuentes fueron: abdominal 47%, pulmonar 33%, tejidos blandos 8%, vías urinarias 7% y misceláneas 5%. De las bacterias aisladas 52% fueron gramnegativas, 38% grampositivas, y 10% hongos. Las conclusiones de este

estudio son que la sepsis tiene una elevada incidencia y mortalidad y supone costos importantes al sistema de salud, así como que el desconocimiento de la campaña para aumentar la sobrevida en sepsis en los profesionales de la salud es un hecho lamentable (4).

2.6 Mecanismos Fisiopatológicos

2.6.1 Infección sistémica

La infección sistémica por bacterias gramnegativas es la situación que más se estudia en modelos experimentales y humanos. El factor de virulencia más constante de estos microorganismos gramnegativos es una endotoxina que forma parte de la membrana celular externa de la bacteria, es un lipopolisacárido que se libera hacia el torrente sanguíneo cuando hay lisis bacteriana. La respuesta inicial del huésped es liberar un reactante hepático de fase aguda denominado proteína fijadora de lipopolisacárido en concentraciones séricas de 2-20 µg/mL, pero puede incrementarse hasta 100 µg/mL en caso de inflamación sistémica. La proteína fijadora de lipopolisacárido forma un complejo con el lipopolisacárido bacteriano que cataliza la unión de éste al receptor CD14 en el macrófago, lo que resulta en síntesis de citocinas proinflamatorias.

Otro papel de la proteína fijadora de lipopolisacárido es unir este último con lipoproteínas alta densidad, lo que neutraliza el lipopolisacárido y, de esta manera, se logra el equilibrio durante la endotoxemia. La proteína fijadora de lipopolisacárido también tiene efectos de opsonización que facilitan la fagocitosis de bacterias gramnegativas (5,6).

La respuesta inmunitaria es correctamente controlada y por lo general se autorregula de manera efectiva para limitar las infecciones y promover la reparación celular y tisular. Normalmente este equilibrio se da a través de la cascada de citocinas: proinflamatorias, como el TNF- α , las interleucinas 1 y 12 y el interferón gamma, y señales antiinflamatorias, como interleucinas 10, 4 y 6 y el factor de crecimiento transformador beta, el antagonista del receptor de IL-1 y algunas

prostaglandinas. En el caso de que predomine la respuesta proinflamatoria acontece la sepsis; sin embargo, en el caso de que predomine la respuesta antiinflamatoria ocurre un estado de inmunosupresión relativa (7).

2.6.2 Disfunciones endoteliales, de coagulación y microcirculatoria

Durante la sepsis las células endoteliales pierden trombomodulina y heparansulfato (que actúa como cofactor para la antitrombina III), se incrementa la síntesis de factor tisular que impide la activación de proteína C que, al igual que su cofactor, la proteína S, inactiva los cofactores para la respuesta procoagulante, principalmente los factores Va y VIIIa, lo que modifica el equilibrio procoagulante-anticoagulante con franco predominio procoagulante, que provoca trombosis microvascular en diversos órganos, hipoperfusión celular y disfunción orgánica múltiple (8).

2.6.3 Liberación de óxido nítrico

La síntesis del óxido nítrico por la célula endotelial, catalizada por la familia de las óxido nítrico sintasas a partir del aminoácido L-arginina, es responsable del tono vasodilatador, esencial para la regulación de la presión arterial y una síntesis excesiva puede ser responsable de la hipotensión resistente del choque séptico.

Las citocinas proinflamatorias estimulan la liberación masiva endotelial de esta sustancia al inducir la expresión de una isoforma, diferente de la habitual, de la enzima sintasa de óxido nítrico. Además, esta liberación desmesurada de óxido nítrico desencadena un mecanismo de actuación diferente del habitual. En condiciones fisiológicas, el óxido nítrico ejerce sus efectos mediante la activación de la fracción soluble de la enzima guanilato ciclasa, con el consiguiente aumento en la concentración del segundo mensajero guanosina monofosfato cíclico (cGMP).

En este nuevo escenario hiperproductor, el óxido nítrico actúa independientemente de la cGMP, ya sea aumentando la ribosilación de ADP en las proteínas plaquetarias, inactivando enzimas mitocondriales, o dañando el ADN, causando daño celular intenso irreversible en la microcirculación, lo que lleva a la vasodilatación generalizada y, por ende, a un estado de hipoperfusión generalizada que produce un estado de choque (9).

2.6.4 Supresión del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal

Otro mecanismo fisiopatológico que puede originar sepsis es la insuficiencia suprarrenal relativa o asociada con sepsis, éste es el resultado de la supresión del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal por citocinas proinflamatorias. La endotoxemia que resulta durante la sepsis estimula la producción de interleucinas 1 y 6 y el TNF- α . Las interleucinas 1 y 6 son activadores hipotalámicos que aumentan la liberación de la hormona liberadora de corticotropina, lo que aumenta la secreción de cortisol, el TNF- α es inductor de la secreción de hormona adrenocorticotropa, pero deteriora la liberación de la hormona adrenocorticotropa inducida por la hormona liberadora de corticotropina, lo que conlleva a la insuficiencia suprarrenal relativa, donde la expresión clínica más severa en los pacientes con sepsis es la baja respuesta a aminas vasopresoras (10).

2.7 Diagnóstico

2.7.1 Criterios de sepsis

Infección documentada o sospechada y uno de los siguientes parámetros:

2.7.2 Parámetros generales

- Fiebre (temperatura $> 38,3^{\circ}\text{C}$)
- Hipotermia (Temperatura $< 36^{\circ}\text{C}$)
- Frecuencia cardíaca > 90 latidos/minuto o 2 DS por encima del valor normal para la edad
- Taquipnea > 30 respiraciones/minuto
- Alteración del estado mental
- Edema significativo o balance de fluidos positivo (> 20 mL/kg en 24 horas)
- Hiperglicemia (glucosa plasmática > 110 mg/dL) en ausencia de diabetes

2.7.3 Parámetros inflamatorios

- Leucocitosis (recuento de glóbulos blancos $> 12000/\mu\text{L}$)
- Leucopenia (recuento de glóbulos blancos $< 4000/\mu\text{L}$)
- Recuento de glóbulos blancos normal con más del 10% de formas inmaduras
- Proteína C reactiva en plasma > 2 DS sobre el valor normal
- Procalcitonina en plasma > 2 DS sobre el valor normal

2.7.4 Parámetros hemodinámicos

- Hipotensión arterial (PAS < 90 mmHg, PAM < 70 mmHg o disminución PAS > 40 mmHg en adultos o < 2 DS debajo de lo normal para la edad)
- Saturación venosa mixta de oxígeno $> 70\%$
- Índice cardíaco $> 3,5$ L/min/m²

2.7.5 Parámetros de disfunción orgánica

- Hipoxemia arterial ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
- Oliguria aguda (gasto urinario $< 0,5$ ml/kg/h o 45 mm/L por lo menos 2 horas)
- Incremento de la creatinina $\geq 0,5$ mg/dL
- Anormalidades de la coagulación: INR $> 1,5$ o TTP activado > 60 segundos)
- Íleo (ausencia de ruidos hidroaéreos)
- Trombocitopenia (Recuento de plaquetas $< 100\ 000/\mu\text{L}$)
- Hiperbilirrubinemia (Bilirrubina total en plasma > 4 mg/dL)

2.7.6 Parámetros de perfusión tisular

- Hiperlactatemia (> 3 mmol/L)
- Disminución del llenado capilar o moteado (11).

2.8 Biomarcadores

Se define como biomarcador (BM) a aquella molécula medible en una muestra biológica de forma objetiva, sistemática y precisa, cuyos niveles se constituyen en indicadores de que un proceso es normal o patológico y sirven para monitorizar la respuesta al tratamiento (12-14).

Un BM ideal debería tener las siguientes características: ser fácil de medir, técnicamente no complejo, de bajo costo y que detecte la enfermedad con una alta sensibilidad y especificidad, permitiendo además cuantificar la severidad del proceso en ausencia de signos clínicos, el curso de la enfermedad y la respuesta a la terapia.

Al biomarcador ideal para sepsis, se le debería reconocer y exigir la capacidad para:

1. Establecer un diagnóstico precoz (incluso antes de que se manifiesten los signos y síntomas de una infección bacteriana grave como hipotensión, hiperlactacidemia o disfunción de órganos). Por lo tanto, aumentará la seguridad y acortará el tiempo del diagnóstico clínico de la sepsis (frente a otras causas de SIRS provocados por otras enfermedades sistémicas, inflamatorias, infecciones víricas, etc.), permitiendo el inicio precoz de las medidas terapéuticas adecuadas (12,13,15,16).
2. Cuantificar la gravedad y estratificar el riesgo, identificar a los pacientes con infección grave con la máxima sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo (VPP), y descartar los casos con riesgo de mala evolución con la mayor especificidad y valor predictivo negativo (VPN) (13,17).

3. Monitorizar la evolución de la infección bacteriana y su respuesta al tratamiento, de forma que sirva de guía para la terapia antibiótica (17,18).

En la actualidad más de 170 biomarcadores han sido estudiados pero debido a la compleja fisiopatología de la sepsis que implica a casi todos los tipos de células, tejidos y sistemas de órganos, no es sorprendente que ninguno tenga suficiente sensibilidad y especificidad para ser empleado rutinariamente en el diagnóstico de la misma (12,19).

Entre ellos, la proteína C reactiva, el lactato y la procalcitonina son los utilizados casi exclusivamente (20).

2.8.1 Procalcitonina

La procalcitonina (PCT) fue descubierta en 1975 por un grupo de investigadores españoles dirigido por F. Moya (21). Es un péptido de 116 aminoácidos con un peso molecular de 13 kDa; es la glicoproteína precursora de la calcitonina y no tiene actividad fisiológica aparente (22). Es producida por las células C del timo, pero puede ser sintetizada por leucocitos, hígado, riñón, adipocitos y músculo durante períodos de inflamación elevada (22-25). Tiene una vida media en suero de 25 a 30 h y en individuos sanos los niveles séricos permanecen en 0.1 ng/mL. Durante períodos de infección bacteriana, fúngica o parasitaria severa, los niveles séricos pueden alcanzar los 100 ng/mL. Debe tenerse en cuenta que aunque generalmente la PCT sólo se eleva significativamente en caso de infección, también puede hacerlo en procesos no infecciosos, como lesión inhalatoria (26,27), quemaduras severas (28), pancreatitis (29), infarto intestinal (30), politraumatismos(31) y cirugía extensa (32), lo que disminuye la especificidad de este marcador para la predicción de la infección sistémica.

La sugerencia de que la PCT podría ser un biomarcador útil de la inflamación causada por un proceso infeccioso sistémico o sepsis se propuso por primera vez a principios de la década de 1990 (22, 33). La cinética de la respuesta de PCT es ideal para este propósito, ya que las concentraciones séricas elevadas ocurren dentro de las 2 a 4 h del evento inflamatorio, alcanzan concentraciones máximas

dentro de las 24 a 48 h y disminuyen rápidamente cuando se resuelve el proceso (23-25). La magnitud y la duración de los niveles séricos elevados de PCT parecen ser paralelos a la gravedad de la enfermedad y a su resolución (22, 24, 34). En la práctica, sin embargo, parece que usar PCT para distinguir la sepsis del SIRS no infeccioso es modestamente mejor que la proteína C reactiva (24, 35, 36).

2.8.2 Proteína C reactiva

La proteína C reactiva es miembro de la familia de las pentraxinas, proteínas plasmáticas estructurales calcio ligando dependiente, sintetizada principalmente por los hepatocitos en respuesta a la estimulación por citocinas tales como IL-6, sin embargo también puede ser sintetizada por macrófagos alveolares. Tiene una vida media plasmática de 19 horas. Las concentraciones normales son de aproximadamente 0.8 mg/L pero puede estar aumentada en adultos mayores. Estudios relacionan el aumento en las concentraciones plasmáticas con incremento del riesgo de falla orgánica o muerte (37-39).

La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda y sus niveles en plasma se pueden incrementar principalmente en estados inflamatorios tanto agudos como crónicos. Se utiliza para diferenciar las infecciones de otras causas de inflamación, sin lograr separar entre los tipos de infección, sin embargo sus concentraciones son mayores en infecciones bacterianas (40). Existen diferentes estudios en que varía tanto la especificidad como la sensibilidad de la proteína C reactiva como biomarcador diagnóstico en sepsis, se toma un valor corte de 80 mg/L sobre el cual la sensibilidad puede variar de 67,6 a 93,4% en diferentes estudios y una especificidad de 61,3 a 86,3 % . Cuando se combina los valores elevados de proteína C reactiva con aumento de la temperatura corporal mayor a 38 °C la especificidad incrementa a 100% (39,40).

2.8.3 Lactato

El lactato se sintetiza en el organismo como producto de la glicólisis anaeróbica cuando la demanda de oxígeno tisular disminuye hasta un punto crítico debido a diversos estados patológicos y no es posible la síntesis de ATP por la vía aerobia;

se produce un bloqueo en el ciclo de Krebs con desvío de la línea de síntesis a partir de piruvato, con la consecuente génesis de lactato.

En el caso de la sepsis severa y el choque séptico existe un desequilibrio entre la disponibilidad y el consumo de oxígeno, lo que altera el metabolismo a nivel celular, en ambas predomina un estado de hipoperfusión tisular, que da como resultado final la formación de lactato (41,42).

El lactato es un biomarcador de hipoperfusión tisular y elemento clave en el manejo de la sepsis que ha demostrado su magnífica capacidad predictora de mortalidad, lo que añadido a su fácil, rápida obtención y su bajo coste hacen que se mantenga intacta su importancia y su utilidad para los servicios de urgencias hospitalarios (43,44).

Sin embargo no es un biomarcador que ayude a diferenciar la sepsis de un SIRS no infeccioso, sino que su utilidad se centra en la demostración de hipoperfusión tisular y la valoración de la respuesta al tratamiento en los servicios de urgencias hospitalarios.

2.8.4 α -1- glicoproteína ácida

La α 1- glicoproteína ácida (AGP) también llamada orosomucoide es una importante proteína de fase aguda positiva que representa el 1-1.5% de las proteínas séricas totales (45); se sintetiza en el hígado, regulada por la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral, y se secreta en el suero en respuesta a la inflamación y la infección (46). Además de su función de transporte, la AGP tiene una actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora relevante. Los estudios in vitro han mostrado que la AGP tiene varios efectos en los principales tipos de leucocitos: inhibe la proliferación de linfocitos, la quimiotaxis de neutrófilos, la generación de superóxido y la agregación plaquetaria (47). Además de hepatocitos, los leucocitos y las células endoteliales también pueden sintetizar AGP. En respuesta a los estímulos agudos, como resultado de la liberación de glucocorticoides y citocinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α), el nivel sérico de AGP aumenta varias veces (48).

Se han descrito concentraciones aumentadas en suero de AGP en varios trastornos con activación inflamatoria, como enfermedades inmunológicas, enfermedad de Crohn, tumores e infecciones (49). Se informó recientemente una elevación de la AGP sérica con el posible rendimiento diagnóstico para la sepsis (50). Recientemente se ha demostrado que el AGP es necesario para el mantenimiento de la permeabilidad capilar y para ser parcialmente protector en varios modelos de shock en roedores, en los que actúa para mantener la perfusión de los órganos vitales (51). Por otro lado se sabe que los estrógenos, el síndrome nefrótico o enteropatías con pérdida de proteínas causan el descenso de los niveles plasmáticos de α -1-glicoproteína ácida (52).

2.9 Cultivos

Un diagnóstico basado en el cultivo en combinación con los hallazgos clínicos es el estándar de oro actual para sepsis en cualquier grupo etario (53).

El hemocultivo es el estudio de primera línea en pacientes con sospecha de infección; el objetivo principal consiste en confirmar bacteriemia (54).

Existen numerosos estudios que muestran que la sobrevivencia de los pacientes sépticos aumenta entre un 30 y 40% cuando se conoce el microorganismo causal, y el paciente recibe el tratamiento de acuerdo a la susceptibilidad antibiótica (55,56).

La positividad de los hemocultivos además de establecer el diagnóstico de infección, permite identificar el microorganismo y realizar el estudio de la susceptibilidad antibiótica (antibiograma o antifungograma), y aporta la etiología del proceso, lo que en ocasiones apunta al foco primario u origen de la infección.

La toma de hemocultivos es primordial para la identificación adecuada del agente causal y el tratamiento dirigido. Por lo que se recomienda obtener cultivos apropiados antes de iniciar el tratamiento antibiótico, siempre y cuando la toma de los cultivos no retrase su inicio, el tiempo límite es de 45 minutos de retraso de inicio del tratamiento antibiótico.

Se recomienda tomar dos muestras de hemocultivo para microorganismos aerobios y anaerobios antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano. También se recomienda la toma de cultivo de cualquier acceso percutáneo que tenga más de 48 horas de su colocación, porque puede ser foco de infección nuevo o el origen de la infección generalizada.

Los cultivos de otros sitios, como la orina, líquido cefalorraquídeo, heridas, secreciones respiratorias u otros fluidos corporales que pueden ser el origen de la infección también deben obtenerse antes del tratamiento antimicrobiano, si con ello no causa retraso significativo en la administración de antibióticos más allá de 45 minutos (57).

2.9.1 Agentes etiológicos en sepsis

El porcentaje de microorganismos aislados depende de las poblaciones de microorganismos que maneja cada hospital e incluso cada unidad del hospital.

En un estudio realizado en 2015 por Ruiz-Giardin y su grupo, los microorganismos más frecuentes fueron: enterobacterias en 47%, *Staphylococcus* en 15%, *Staphylococcus aureus* en 8%, infecciones polimicrobianas en 5%, *Enterococcus sp* en 5%, bacilos gramnegativos no fermentadores en 4%, *Streptococcus pneumoniae* en 2.5%, *Candida sp* en 2% y *Streptococcus agalactiae*, en 1% (58).

Sin embargo más de 300 especies de bacterias se han relacionado con sepsis (54).

La identificación rápida de pacientes con sepsis es vital, ya que de inmediato requieren un tratamiento apropiado. Además, las herramientas con un alto VPN para excluir la infección o la bacteriemia son importantes para aumentar la rentabilidad de los exámenes microbiológicos y para evitar el tratamiento antibiótico inapropiado.

3. JUSTIFICACIÓN

Aunque la sepsis se conoce desde la antigüedad, sigue siendo un problema de salud desafiante en el siglo XXI (59). La sepsis, con una tasa de mortalidad de aproximadamente el 30% y los altos costos de la atención es una de las afecciones más graves en las admisiones a unidades de cuidados intensivos (60,61). Para mejorar el resultado de la enfermedad, es necesario el diagnóstico temprano y la terapia dirigida a objetivos (62,63). Además de los signos clínicos, los parámetros de laboratorio brindan ayuda eficiente para el diagnóstico rápido y para iniciar la terapia apropiada tan pronto como sea posible.

Recientemente se han evaluado, en combinación con las pruebas microbiológicas estándar, una serie de biomarcadores para este propósito. Los biomarcadores podrían desempeñar un papel importante en el diagnóstico y la evaluación de la sepsis (64,65); sin embargo, el valor de éstos en el tratamiento de pacientes sépticos sigue siendo insatisfactorio.

En la actualidad, la proteína C reactiva y la procalcitonina se usan comúnmente como biomarcadores de sepsis, pero estos marcadores han sido cuestionados. Por lo tanto, el descubrimiento de nuevos biomarcadores para un diagnóstico más preciso y evaluación del pronóstico en la sepsis se necesita con urgencia.

Herramientas con un alto valor predictivo negativo (VPN) para excluir la bacteriemia son importantes para aumentar la rentabilidad de los exámenes microbiológicos y para evitar el tratamiento antibiótico inapropiado (36).

La α -1-glicoproteína ácida (AGP) es una proteína sérica de fase aguda que se sintetiza en el hígado, regulada por la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral, y se secreta en el suero en respuesta a la inflamación y la infección (46). Su concentración sérica aumenta de dos a cinco veces durante una respuesta de fase aguda, como la sepsis (48). Recientemente se ha demostrado que el AGP es necesaria para el mantenimiento de la permeabilidad capilar y para ser parcialmente protectora en varios modelos de shock en roedores, en los que actúa para mantener la perfusión de los órganos vitales (43).

En este contexto, en el presente trabajo se investigó la capacidad diagnóstica de la α -1-glicoproteína ácida (AGP) sérica como un nuevo biomarcador de sepsis y se comparó su rendimiento con un parámetro inflamatorio clásico, la PCT y con una prueba microbiológica (estándar de oro), el hemocultivo.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad diagnóstica de la α -1-glicoproteína ácida sérica como un nuevo biomarcador de sepsis y comparar su rendimiento con los niveles séricos de procalcitonina, tomando al hemocultivo como el estándar de oro.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar si la medición de los niveles séricos de α -1-glicoproteína ácida permite de manera óptima y precisa, establecer el diagnóstico de sepsis.
- Determinar si la Procalcitonina y la α -1-glicoproteína ácida son fiables en la determinación precoz de sepsis, tomando en cuenta su sensibilidad y especificidad.
- Evaluar cuál de los dos biomarcadores es más eficiente en la detección de pacientes con sospecha de sepsis.
- Evaluar el rendimiento del kit comercial α 1-glicoproteína ácida BioSystems®

5. HIPÓTESIS

- **Hipótesis nula H0:** los niveles séricos de AGP no son útiles para establecer el diagnóstico preciso de sepsis.
- **Hipótesis alternativa H1:** los niveles séricos de AGP son útiles para establecer el diagnóstico preciso de sepsis.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Pacientes

Desde abril de 2016 hasta agosto de 2017, reclutamos 35 pacientes de la UCI de un hospital privado de la ciudad de Puebla. El diagnóstico del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y sepsis se basó en los criterios de la Conferencia de Consenso de la American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (20) y fue propuesto por la Conferencia Internacional de Definición de Sepsis de 2001 (22).

Un paciente fue diagnosticado con SIRS cuando estaban presentes dos o más de las siguientes manifestaciones: (1) temperatura superior a 38°C o inferior a 36°C; (2) frecuencia cardíaca mayor que 90 latidos/min; (3) frecuencia respiratoria más de 20 respiraciones/min, o PaCO₂ menor de 32 mmHg; y (4) recuento de glóbulos blancos mayor de 12×10⁹/L o menor de 4×10⁹/L, o la presencia de más del 10% de neutrófilos inmaduros (bandas).

La sepsis se definió como SIRS con infección definida por hemocultivo positivo.

6.2 Métodos Analíticos

6.2.1 Muestreo y análisis de laboratorio

Para nuestro estudio, se tomaron muestras de sangre de cada paciente a su admisión a la UCI con sospecha diagnóstica de SIRS y sepsis. Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción. La sangre venosa se recogió en tubos separadores de suero dorados, se centrifugaron y los sobrenadantes se transfirieron a tubos Eppendorf que finalmente se almacenaron a -20°C. Cuando se completó la ronda de pacientes requeridos para el estudio se comenzó el experimento.

6.2.2 α -1- glicoproteína ácida

Se midieron los niveles séricos de α -1- glicoproteína ácida usando un kit comercial de ensayo turbidimétrico (α -1- ACID GLYCOPROTEIN, número de catálogo COD

31928; *BioSystems*, Barcelona, España), mediante el uso del protocolo del fabricante. La longitud de onda utilizada para la reacción turbidimétrica fue de 340 nm. El tiempo de ensayo fue de 10 minutos, el límite de detección fue de 0.9 mg/dL. Se elaboró una curva de calibración con el kit comercial *BioSystems Calibradores de Proteínas COD 31075* y se utilizaron tres niveles de control (Alto, Medio y Bajo) *Siemens NT protein Control SL/M LOT 084748*.

6.2.3 Procalcitonina

La determinación de PCT se hizo con un inmunoanalizador multiparamétrico VIDAS® de B.R.A.H.M.S mediante un método de enzoinmunoensayo tipo sándwich en un sólo paso, con una detección final por fluorescencia (ELFA). La muestra, compuesta por 200 µL de suero, es transferida al pocillo número 1, donde se procesa la mezcla muestra-conjugado por una sucesión de ciclos de aspiración y expulsión en un cono de fase sólida, cuyo interior está sensibilizado con inmunoglobulina monoclonal de ratón anti-procalcitonina humana.

Esto permite que la procalcitonina existente en el suero problema se fije a la inmunoglobulina y al conjugado, hasta formar un sándwich. Los elementos que quedan libres se eliminan mediante lavado. Se hacen dos etapas de detección sucesivamente y, durante cada una de ellas, el sustrato (4-metil-umbeliferil-fosfato) es aspirado y expulsado del cono. La enzima del conjugado cataliza la hidrólisis del sustrato en un producto fluorescente (4 metil- umbeliferona), cuya intensidad se mide a 450 nm. La intensidad de fluorescencia es directamente proporcional a la concentración de antígeno (procalcitonina) presente en la muestra y al final del ensayo, el equipo calcula los resultados de forma automática en relación con dos curvas de calibración correspondientes a las dos etapas de detección. Los resultados están disponibles en aproximadamente 20 minutos.

El rango de medición va de 0,05 a 200 ng/ml. Si la concentración es mayor del valor máximo detectado se diluye la muestra al 10 % y se vuelve a analizar. La calibración del sistema se hace cada 28 días. Cada kit tiene reactivos para 60 determinaciones, dos calibradores y dos controles.

6.2.4 Hemocultivo

Se obtuvieron de 1 a 2 conjuntos de hemocultivos por venopunción de sitios diferentes, por cada paciente reclutado con sospecha clínica de SIRS y sepsis antes de iniciar el tratamiento antibiótico, siempre y cuando la toma de éste no retrasara su inicio; el tiempo límite fue de 45 minutos.

La toma y procesamiento de los hemocultivos se llevó a cabo de acuerdo a la Guía Aprobada M47-A del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés) denominada "*Principios y procedimientos para hemocultivos*".

6.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos se llevó a cabo mediante los paquetes estadísticos Minitab versión 18 para Windows (Minitab Inc., Pensilvania, EEUU) y MedCalc versión 17.9.7 para Windows (MedCalc Software, Marlaekerke, Bélgica). Asimismo, se utilizó la herramienta de evaluación crítica CATmaker v3.3 para Windows (Universidad de Oxford, Reino Unido).

Se hizo un análisis descriptivo de las variables incluidas en el estudio. Se comprobó mediante la prueba de Anderson-Darling si las variables cuantitativas se ajustaban a una distribución normal. Las variables cuantitativas fueron expresadas como medias, con IC al 95%, en el caso de variables con distribución normal. Para las variables cualitativas se determinaron las proporciones, con sus intervalos de confianza al 95%.

En el caso de variables ajustadas a distribución normal se utilizó el test chi-cuadrado para la comparación de variables cualitativas; cuando las frecuencias teóricas incluyeron frecuencias inferiores a 5 se optó por confiar en la prueba exacta de Fisher. Se consideró que había significación estadística para valores de p inferiores a 0,05.

Se establecieron distintos puntos de corte para valorar los niveles de Procalcitonina, y α -1-Glicoproteína como marcadores de sepsis, obteniendo distintos valores de

sensibilidad, especificidad, precisión diagnóstica y valores predictivos negativo y positivo, con sus respectivos intervalos de confianza al 95%. La eficacia diagnóstica de los distintos puntos de corte se comparó mediante curva ROC, calculando las correspondientes áreas bajo la curva, con sus intervalos de confianza.

7. RESULTADOS

7.1 Descripción de la serie

La serie estaba constituida por un total de 35 pacientes admitidos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), cuyos resultados fueron recopilados en el siguiente listado.

Muestra	Sexo	Edad	α-1-Glicoproteína ácida (mg/dL)	Procalcitonina (ng/ml)	Hemocultivo	SIRS/SEPSIS
1	M	65	188.07	1.33	Negativo	SIRS
2	M	77	160.72	4.5	Positivo	SEPSIS
3	F	88	172.15	1.76	Negativo	NO
4	M	28	110.11	NS	NS	NO
5	M	74	197.25	1.49	Positivo	SEPSIS
6	F	16	150.72	0.12	Negativo	NO
7	F	53	157.05	NS	NS	NO
8	M	97	168.07	0.3	NS	NO
9	M	78	121.54	0.09	Negativo	SIRS
10	F	61	120.72	NS	NS	NO
11	M	55	182.15	1.95	Positivo	SEPSIS
12	M	65	98.07	NS	NS	NO
13	M	75	169.70	1.24	Negativo	SIRS
14	F	63	160.93	2.28	Negativo	SIRS
15	M	42	98.27	NS	Negativo	SIRS
16	M	69	152.15	NS	NS	SIRS
17	M	24	163.99	NS	NS	SIRS
18	F	82	215.21	2.08	Negativo	SIRS
19	F	58	162.15	NS	NS	NO
20	M	75	206.84	0.49	Negativo	SIRS
21	M	71	161.13	3.2	Positivo	SEPSIS
22	F	82	169.50	1.21	NS	SIRS
23	F	92	124.19	19.37	Positivo	SEPSIS
24	M	59	94.19	0.13	Negativo	SIRS
25	M	63	209.70	2.5	Positivo	SEPSIS
26	M	48	193.17	NS	NS	SIRS
27	M	86	106.44	2.3	NS	SIRS
28	M	37	117.86	2.06	Negativo	SIRS
29	M	66	192.35	NS	Negativo	SIRS
30	M	73	140.93	NS	NS	NO

31	F	22	200.93	NS	Negativo	SIRS
32	F	11	203.58	NS	NS	SIRS
33	F	43	167.05	NS	NS	NO
34	M	67	197.66	1.8	Negativo	SIRS
35	M	29	173.17	NS	NS	NO

NS: No se realizó. NO: Diagnóstico diferente, SIRS: Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica

Tabla 1.1 Tabla general de resultados

7.2 Análisis e interpretación de resultados

7.2.1 Edad y sexo

La edad media de los pacientes fue de 59.83 años, con una mediana de 65, un mínimo de 11 y un máximo de 97 años; 23 pacientes eran varones, lo que suponía un 65.7 % y 12 eran mujeres, un 34.3 % del total.

SEXO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
MASCULINO	23	65.7
FEMENINO	12	34.3
TOTAL	35	100.0

Tabla 2.1 Muestras obtenidas en base al sexo

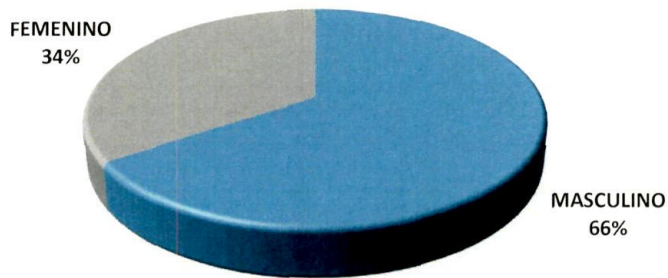


Figura 1.1 Distribución de porcentajes de acuerdo al sexo

Número de pacientes	Edad mínima	Edad máxima	Edad media
35	11 años	97 años	59.83

Tabla 2.2 Rango etario

EDAD	
MEDIA	59.83 (IC 95% 52.41 a 67.24 años)
VARIANZA	500.91
DS	22.38
MEDIANA	65

Tabla 2.3 Análisis etario

7.3 Análisis de Procalcitonina y Hemocultivo

Para probar la hipótesis que refiere asociación entre los Hemocultivos y la Procalcitonina se utiliza en primera instancia una prueba de chi-cuadrado para independencia de variables. Se escoge un nivel de significación $p < 0.05$. En este caso como dos de las frecuencias esperadas son menores que 5 se optó por utilizar la prueba exacta de Fisher.

		Hemocultivo		TOTAL
		+	-	
Procalcitonina	↑	5	3	8
	N	1	8	9
TOTAL		6	11	17
Valor de $p = 0.049774$				

Tabla 3.1 Tabla de contingencia Hemocultivo vs PCT para prueba exacta de Fisher

Se contrastan dos hipótesis, la nula (H_0 : no hay asociación entre el Hemocultivo y la Procalcitonina) contra la hipótesis alternativa (H_1 : si hay asociación entre el Hemocultivo y la Procalcitonina).

Como el valor obtenido de p en la prueba exacta de Fisher **0.049774** es menor que 0.05, entonces se acepta la hipótesis alternativa que plantea la asociación entre el Hemocultivo y la Procalcitonina.

Se calculó a su vez el VPP de Procalcitonina para Hemocultivos Positivos que fue de 63% (IC 95% 29 a 96) y se obtuvo un VPN de 89% (IC 95% 68 a 100).

7.4 Análisis de α -1- Glicoproteína ácida y Hemocultivo

Para probar la hipótesis que refiere asociación entre los Hemocultivos y α -1- Glicoproteína ácida se utiliza una prueba de chi-cuadrado para independencia de variables. Se escoge un nivel de significación $p < 0.05$. En este caso como una de las frecuencias esperadas también es menor que 5 se optó por utilizar la prueba exacta de Fisher.

		Hemocultivo		TOTAL
		+	-	
α -1	↑	5	9	14
Glicoproteína ácida	N	1	5	6
TOTAL		6	14	20
Valor de $p = 0.612616$				

Tabla 4.1 Tabla de contingencia Hemocultivo vs AGP para prueba exacta de Fisher

Se contrastan dos hipótesis, la nula (H_0 : no hay asociación entre el Hemocultivo y α -1-Glicoproteína ácida) contra la hipótesis alternativa (H_1 : si hay asociación entre el Hemocultivo y α -1-Glicoproteína ácida).

Como el valor obtenido de p en la prueba exacta de Fisher **0.612616** es mayor que 0.05, entonces se acepta la hipótesis nula que plantea la no asociación entre el Hemocultivo y α -1-Glicoproteína ácida.

Se calculó a su vez el VPP de α -1-Glicoproteína ácida para Hemocultivos Positivos que fue de 36% (IC 95% 11 a 61) y se obtuvo un VPN de 83% (IC 95% 54 a 100).

7.5 Análisis de sensibilidad y especificidad

Para este análisis se establecieron distintos puntos de corte para valorar los niveles de PCT y α -1- Glicoproteína ácida como marcadores de sepsis, obteniendo distintos valores de sensibilidad y especificidad, con sus respectivos intervalos de confianza al 95%. La eficacia diagnóstica de los distintos puntos de corte se comparó mediante curva ROC, calculando las correspondientes áreas bajo la curva, con sus intervalos de confianza.

Para construir las curvas ROC de eficacia diagnóstica se seleccionaron aquellos pacientes a quienes se les realizaron ambos biomarcadores de manera paralela, creando un conjunto de pares ordenados. Información que se resume en la Tabla 5.1.

Muestra	Sexo	Edad	α-1- Glicoproteína ácida (mg/dL)	Procalcitonina (ng/ml)	SIRS/SEPSIS
1	M	65	188.07	1.33	SIRS
2	M	77	160.72	4.5	SEPSIS
3	F	88	172.15	1.76	NO
4	M	74	197.25	1.49	SEPSIS
5	F	16	150.72	0.12	NO
6	M	97	168.07	0.3	NO
7	M	78	121.54	0.09	SIRS
8	M	55	182.15	1.95	SEPSIS
9	M	75	169.70	1.24	SIRS
10	F	63	160.93	2.28	SIRS
11	F	82	215.21	2.08	SIRS
12	M	75	206.84	0.49	SIRS
13	M	71	161.13	3.2	SEPSIS
14	F	82	169.50	1.21	SIRS
15	F	92	124.19	19.37	SEPSIS
16	M	59	94.19	0.13	SIRS
17	M	63	209.70	2.5	SEPSIS
18	M	86	106.44	2.3	SIRS
19	M	37	117.86	2.06	SIRS
20	M	67	197.66	1.8	SIRS

Tabla 5.1 Tabla diseñada para construir curvas ROC

7.5.1 Sensibilidad y especificidad de Procalcitonina

Al construir las curvas ROC de eficacia diagnóstica para PCT (figura 2.1) se obtuvo un área bajo la curva de 0.804 (intervalo de confianza al 95%: 0.568 - 0.945); error estándar: 0.130; p: 0.0193. En la tabla 6.1 se muestra el valor óptimo de corte.

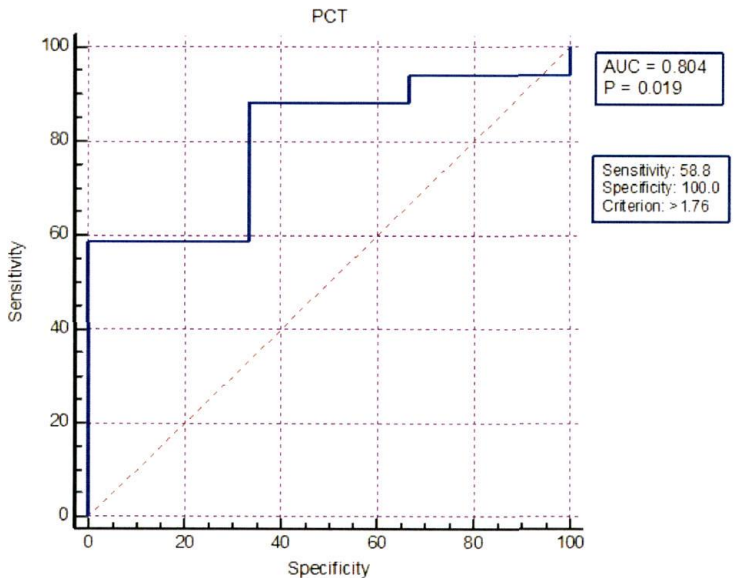


Figura 2.1 Curva ROC de PCT para el desarrollo de sepsis

CRITERIO	PCT > 1.76 ng/ml
Sensibilidad	58.8% (32.9 - 81.6)
Especificidad	100.0% (29.2 - 100.0)

Tabla 6.1 Sensibilidad y especificidad para el valor de corte elegido de PCT según su poder de discriminación para el desarrollo de sepsis

7.5.2 Sensibilidad y especificidad de α -1- Glicoproteína ácida

Al construir las curvas ROC de eficacia diagnóstica para α -1- Glicoproteína ácida (figura 3.1) se obtuvo un área bajo la curva de 0.549 (intervalo de confianza al 95%: 0.314 to 0.769); error estándar: 0.137; p: 0.7200. En la tabla 7.1 se muestra el valor óptimo de corte.

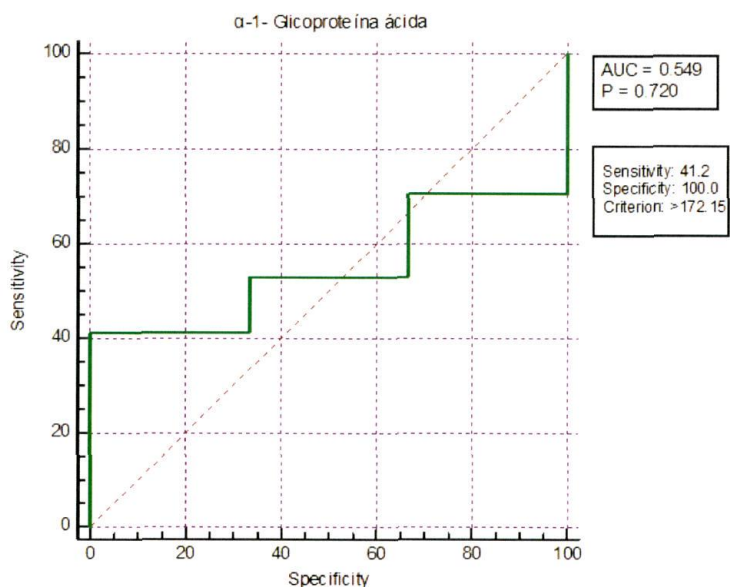


Figura 3.1 Curva ROC de α -1-Glicoproteína ácida para el desarrollo de sepsis

CRITERIO	AGP > 172.15 mg/dL
Sensibilidad	41.2% (18.4 - 67.1)
Especificidad	100.0% (29.2 - 100.0)

Tabla 7.1 Sensibilidad y especificidad para el valor de corte elegido de AGP según su poder de discriminación para el desarrollo de sepsis

7.5.3 Comparación de curvas ROC

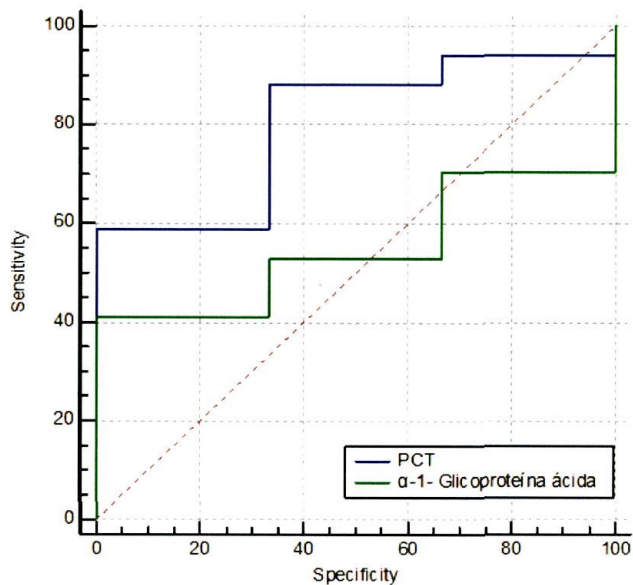


Figura 4.1 Comparación de curvas ROC

<i>PCT~AGP</i>	
<i>Diferencia entre áreas</i>	0.255
<i>Error estándar</i>	0.127
<i>Intervalo de confianza al 95%</i>	0.00547-0.504
<i>Nivel de significancia</i>	p= 0.0452

Tabla 7.2 Comparación de curvas ROC

8. DISCUSIÓN

La sepsis es una de las principales causas de muerte en el paciente crítico. Es una enfermedad heterogénea y con frecuencia es difícil hacer un diagnóstico inequívoco y expedito. El diagnóstico oportuno y preciso de la sepsis es fundamental para reducir la mortalidad. En ausencia de un estándar de oro adecuado para diagnosticar sepsis, ha habido un considerable y creciente interés en tratar de identificar biomarcadores adecuados; las herramientas con un alto valor predictivo negativo para excluir infección o bacteriemia son importantes para aumentar la rentabilidad de los exámenes microbiológicos y para evitar un tratamiento antibiótico inadecuado (12).

En un estudio publicado en 2015 por Kun Xiao y colaboradores del Departamento de Medicina de Terapia Intensiva del Hospital General de Beijing, China; se exploró el valor de la α -1-Glicoproteína ácida para el diagnóstico precoz y la evaluación pronóstica de pacientes con sepsis obteniendo un área bajo la curva (AUC) de AGP de 0.869 con una especificidad de 0.902 (50).

Por otro lado, en un estudio de cohorte prospectivo publicado en 2015 por Ratzinger del Departamento de Medicina de Laboratorio de la Universidad Médica de Viena, Austria, se encontró que para la predicción de la infección en pacientes con SIRS, la procalcitonina fue el mejor discriminador con un área bajo la curva de 0.78, 86.3% de sensibilidad, 59.6% de especificidad y 92.9% de VPN (36).

En el presente estudio evaluamos la capacidad diagnóstica de AGP sérica y comparamos su rendimiento con los niveles séricos de PCT mediante índices como sensibilidad, especificidad, área bajo la curva, VPP y VPN; en pacientes con sospecha de sepsis.

Encontramos en la población estudiada un valor de p de 0.049774, que plantea la asociación entre el Hemocultivo positivo y PCT; y un valor de p de 0.612616 que plantea la no asociación entre Hemocultivo positivo y AGP.

Se obtuvo un VPP de PCT para Hemocultivos Positivos de 63% (IC 95% 29 a 96) y un VPN de 89% (IC 95% 68 a 100). Del mismo modo, se obtuvo un VPP de AGP

para Hemocultivos Positivos de 36% (IC 95% 11 a 61) y un VPN de 83% (IC 95% 54 a 100).

Para PCT se obtuvo un área bajo la curva de 0.804, una sensibilidad de 58.8% (32.9 - 81.6) y una especificidad de 100.0% (29.2 - 100.0). Para AGP se obtuvo un área bajo la curva de 0.594, una sensibilidad de 41.2% (18.4 - 67.1) y una especificidad de 100.0% (29.2 - 100.0).

Un dato importante que hay que tener en cuenta al valorar la validez de la determinación de PCT para el diagnóstico de sepsis son sus valores predictivos. La probabilidad de que un paciente con unos niveles séricos de PCT superiores al punto de corte presente sepsis es alta (VPP de 63%). En contraste con AGP cuyo VPP fue muy bajo (36%). A la luz de los resultados obtenidos podemos inferir que este biomarcador no sería óptimo para poder establecer el diagnóstico de sepsis de forma más precisa.

Las curvas ROC son apropiadas para determinar la utilidad diagnóstica de una prueba, lo cual en la práctica se refleja con valores de área bajo la curva mayores a 0,80; en nuestro estudio se obtuvo para PCT un área bajo la curva de 0.804, lo cual correlaciona directamente con los niveles de sensibilidad y especificidad obtenidos para la misma (58.8% y 100.0% respectivamente); en comparación con AGP, la PCT resulta ser evidentemente superior en su desempeño (área bajo la curva 0.594, sensibilidad 41.2% y especificidad 100.0%). Estos resultados están en línea con **todos** los estudios realizados hasta ahora que han evaluado el rendimiento de Procalcitonina en pacientes con sepsis**.

A pesar de que los resultados obtenidos en nuestro estudio no avalan la utilización de la PCT y AGP como test único de diagnóstico precoz de la sepsis, creemos que son importantes y en el caso de PCT, puede sustentar la adopción precoz de ciertas medidas terapéuticas, como la administración de antibióticos.

Este estudio tiene fundamentalmente dos limitaciones, en primer lugar, el tamaño muestral y el número de hemocultivos positivos, son bajos, por lo que los resultados deben ser interpretados con cautela. La segunda limitación es que no a todos los

pacientes se les realizó la determinación de ambos biomarcadores simultáneamente por lo que al crear el conjunto de pares ordenados, el número de pacientes disminuyó.

A la luz de los resultados obtenidos y de las limitaciones observadas puede proponerse el llevar a cabo un estudio con un tamaño muestral más amplio, pues es el primer estudio en México en el que se comparan ambos biomarcadores.

9. CONCLUSIONES

- Nuestros hallazgos sugieren que la medición de los niveles séricos del biomarcador AGP, de acuerdo a su sensibilidad y especificidad, no es útil para poder establecer el diagnóstico de sepsis de forma precisa.
- Los resultados obtenidos en nuestro estudio no avalan la utilización de la PCT ni AGP como test único de diagnóstico precoz de la sepsis.
- La PCT mostró un rendimiento evidentemente superior que coincide con los resultados de investigaciones previas, los cuales debido a sus altos índices de sensibilidad y especificidad, sugieren la adopción precoz de ciertas medidas terapéuticas, como la administración de antibióticos en pacientes con sospecha de sepsis tras un resultado de PCT elevado.

10. REFERENCIAS

- 1) Opal SM. A brief history of microbiology and immunology. En: Artenstein AW. Vaccines: A Biography. New York: Springer; 2010. pp.31-56
- 2) Martín-Ramírez JF, Domínguez-Borgua A, Vázquez-Flores AD. Sepsis. Med Int Méx 2014;30:159-175.
- 3) Garrod D, Beale V, Miller A, et al, for the Center for Maternal and Childhood Enquiries (CMACE). Midwifery summary. Br J Obstet Gynaecol 2011;118: e1-11.
- 4) Carrillo R, Carrillo JR, Carrillo LD. Estudio epidemiológico de la sepsis en unidades de terapia intensiva mexicanas. Cir Ciruj 2009;77:301–8.
- 5) Levy M, Fink M, Marshall JC. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/ SIS International sepsis definitions conference. Intensive Care Med 2003;29:530-538.
- 6) Parrillo J. Pathogenic mechanisms of septic shock. N Engl J Med 1993;328:1471-1477.
- 7) Hotchkiss RS. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med 2003;348:138-150.
- 8) Russell JA. Management of sepsis. N Engl J Med 2006;355:1699-1713.
- 9) Cobb J, Danner R. Nitric oxide and septic shock. Jama 1996;275:1192-1196.
- 10) Cooper MS. Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. N Engl J Med 2003;348:727-734.
- 11) Levy MM, Fink MO, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Intensive Care Med 2003;29(4):530-8.
- 12) Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. Critical Care 2010;14:R15.
- 13) Biomarkers Definitions Working Group (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther 2001;69:89–95.
- 14) Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. Circulation 2007;115:949–52
- 15) González-Castillo J, Candel FJ, Julián-Jiménez A. Antibióticos y el factor tiempo en la infección en urgencias. Enferm Infecc Microbiol Clin 2013;31:173-80

- 16) Letham K, Gray A. El objetivo de las 4 horas (4-hour target) en los servicios de urgencias del National Health Service: un comentario crítico. *Emergencias* 2012;24:69–72.
- 17) Julián-Jiménez A. Biomarcadores de infección en urgencias: ¿cuáles pueden ser útiles? *Emergencias* 2012;24:343–5.
- 18) Tudela P, Prat C, Lacombe A, Mòdol JM. Biomarcadores y sospecha de infección en los servicios de urgencias. *Med Clin (Barc)* 2012;139:33–7.
- 19) Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, Penuelas O, Lorente JA, Gordo F, et al. Sepsis incidence and outcome: Contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med* 2007;35:1284–9.
- 20) Julián-Jiménez A, et al. Utilidad de los biomarcadores de inflamación e infección en los servicios de urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2014;32(3):177–190
- 21) Moya F, Nieto A, Candela JL. Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *Eur J Biochem* 1975; 55:407–413.
- 22) Karzai W, Oberholzer M, Meier-Hellmann A, Reinhart K. Procalcitonin-- a new indicator of the systemic response to severe infection. *Infection* 1997;6:329–334.
- 23) Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed Res Int* 2014;547818.
- 24) Kibbe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *J Antimicrob. Chemother* 66 (Suppl 2) 2011;ii33–ii40.
- 25) Riedel S. Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73:221–227.
- 26) Nylen ES, O'Neil W, Jordan MH, Snider RH, Moore CF, Lewis M et al. Serum procalcitonin as an index of inhalation injury in burns. *Horm Metab Res* 1992; 24:439–443.
- 27) Nylen ES, Snider RH, Thompson KA, Rohatgi P, Becker KL. Pneumonia associated hyperprocalcitoninemia. *Am J Med Sci* 1996; 312:12–18.
- 28) Carsin H, Assicot M, Feger F, Roy O, Pennacino I, Le Bever H et al: Evolution and significance of circulating procalcitonin levels compared with IL-6, TNF[alpha], and endotoxin levels early after thermal injury. *Burns* 1997; 23:218–224
- 29) Rau BM. Predicting severity of acute pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9:107–115.

- 30) Merle C, Lepouse C, De Garine A: Surgery for mesenteric infarction: Prognostic factors associated with early death within 72 hours. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004; 18:734–741
- 31) Wanner GA, Keel M, Steckholzer U, Beier W, Stocker R, Ertel W: Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. *Crit Care Med* 2000; 28:950–957
- 32) Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J: Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24:680–684
- 33) Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341:515–518.
- 34) Agarwal R, Schwartz DN. Procalcitonin to guide duration of antimicrobial therapy in intensive care units: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2011;53:379–387.
- 35) Tian G, Pan S-Y, Ma G, Liao W, Su Q-G, Gu B-C, Qin K. Serum levels of procalcitonin as a biomarker for differentiating between sepsis and systemic inflammatory response syndrome in the neurological intensive care unit. *J Clin Neurosci* 2014;21:1153–1158.
- 36) Ratzinger F, Schuardt M, Eichbichler K, Tsirkinidou I, Bauer M, Haslacher H, Mitteregger D, Binder M, Burgmann H. Utility of sepsis biomarkers and the infection probability score to discriminate sepsis and systemic inflammatory response syndrome in standard care patients. *PLoS One* 8 2013;e82946.
- 37) Lichtenstern C, Brennerb T, Bardenheuerb HJ, et. al. Predictors of survival in sepsis: what is the best inflammatory marker to measure?. *Curr Opin Infect Dis* 2012, 25:328–336.
- 38) Memis D, Gursoy O, Tasdogan M, et. al. High C-reactive protein and low cholesterol levels are prognostic markers of survival in severe sepsis. *J Clin Anesth* 2007 May;19(3):186-91.
- 39) Sankar V, Webster NR. Clinical application of sepsis biomarkers. *J Anesth* 2013 Apr;27(2):269-83.
- 40) Vincent JL, Donadello K, Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein. *Crit Care Clin* 2011 Apr;27(2):241-51.
- 41) Shapiro N, Howell M, Talmor D, Nathanson L, Lisbon A, Wolfe R et al. Serum lactate as predictor of mortality in emergency department patients with infection. *Ann Emerg Med* 2005; 45 (5): 524-8.

- 42) Rivers E, McIntyre L, Morro D, Rives K. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of window opportunity. *CMAJ* 2005; 173 (9): 1054-65.
- 43) González-Castillo J, Candel FJ, Julián-Jiménez A. Antibióticos y el factor tiempo en la infección en urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013;31(3):173–180
- 44) Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. "2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference". *Intensive Care Med* 2003;29:530-8.
- 45) Schmid K. α 1-acid glycoprotein. In: Putnam FW, editor. *The Plasma Proteins*. New York: Academic Press, 1975:183–228.
- 46) Moore DF, Rosenfeld MR, Gribbon PM, Winlove CP, Tsai CM. Alpha-1-acid (AAG, orosomucoid) glycoprotein: interaction with bacterial lipopolysaccharide and protection from sepsis. *Inflammation* 1997;21(1):69–82.
- 47) Hocheptied T, Berger FG, Baumann H, Libert C. Alpha(1)-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:25–34.
- 48) Fournier T, Medjoubi NN, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482:157–71.
- 49) Ceciliani F, Pocacqua V. The acute phase protein alpha1-acid glycoprotein: a model for altered glycosylation during diseases. *Curr Protein Pept Sci* 2007;8:91–108.
- 50) Xiao K, Su L, Yan P, Han B, Li J, Wang H, et al. Alpha-1-acid glycoprotein as a biomarker for the early diagnosis and monitoring the prognosis of sepsis. *J Crit Care* 2015;30:744–51.
- 51) Muchitsch EM, Auer W, Pichler L. Effects of alpha 1-acid glycoprotein in different rodent models of shock. *Fundam Clin Pharmacol* 1998;12(2):173–81.
- 52) Johnson AM, Rohlfes EM, Silverman LM. *Proteins in: Tietz textbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999; 485-486.
- 53) Hall TC, Bilku DK, Al-Leswas D, et. al. Biomarkers for the differentiation of sepsis and SIRS: the need for the standardization of diagnostic studies. *Ir J Med Sci* 2011;180:793–798.
- 54) Higgins C. Laboratory diagnosis of sepsis: blood culture and beyond. *Biomed Scient* 2010;325-327.

- 55) Bothelo N, Thuny F, Casalta JP, et al. Dramatic Reduction in Infective Endocarditis-Related Mortality Using a Management-Based Approach. *Arch Intern Med* 2009;169:14, 1290-1298.
- 56) Cheng A, Eion West T, Dimmathursotsakul D, Speacock S. Strategies to Reduce Mortality from Bacterial Sepsis in Adults in Developing Countries. *PLoS Med* 2008; 5:8.
- 57) Dellinger RP. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Critical Care Med* 2013;41:580-637.
- 58) Ruiz-Giardin J, Martin-Diaz R, Jaqueti-Aroca J, et al. Diagnosis of bacteriemia and growth times. *Int J Infect Dis* 2015;41:495-497.
- 59) Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013;369:840–51.
- 60) Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303–10.
- 61) Levy MM, Artigas A, Phillips GS, Rhodes A, Beale R, Osborn T, et al. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2012;12:919–24.
- 62) Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013;39:165–228.
- 63) Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368–77.
- 64) Biomarkers Definitions Working G. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3):89–95.
- 65) Marshall JC, Reinhart K, International Sepsis F. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009;37(7):2290–8.

11. LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Distribución de porcentajes de acuerdo al sexo.....	26
Figura 2.1 Curva ROC de PCT para el desarrollo de sepsis.....	30
Figura 3.1. Curva ROC de α -1-Glicoproteína ácida para el desarrollo de sepsis..	31
Figura 4.1. Comparación de curvas ROC.....	32

12. LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Tabla general de resultados.....	24
Tabla 2.1 Muestras obtenidas en base al sexo.....	25
Tabla 2.2 Rango etario.....	26
Tabla 2.3 Análisis etario.....	26
Tabla 3.1 Tabla de contingencia Hemocultivo vs PCT para prueba exacta de Fisher.....	27
Tabla 4.1 Tabla de contingencia Hemocultivo vs AGP para prueba exacta de Fisher.....	28
Tabla 5.1 Tabla diseñada para construir curvas ROC.....	29
Tabla 6.1 Sensibilidad y especificidad para el valor de corte elegido de PCT según su poder de discriminación para el desarrollo de sepsis.....	30
Tabla 7.1 Sensibilidad y especificidad para el valor de corte elegido de AGP según su poder de discriminación para el desarrollo de sepsis.....	31
Tabla 7.2 Comparación de curvas ROC.....	32