

UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (B) e Inmunología



TESIS DOCTORAL

**BIOMARCADORES DE SEPSIS EN SANGRE DE CORDÓN PARA EL
DIAGNÓSTICO DE SEPSIS NEONATAL PRECOZ**

Memoria para optar al grado de doctor
presentada por

Natalia Sancho Rodríguez

Bajo la dirección de los Doctores:

Dr. Vicente Bosch Giménez

Dr. José Antonio Noguera Velasco

Dr. Pedro Martínez Hernández

Murcia, 2012

A mi abuela *María*.

A mi abuelo *Santiago*, que en paz descanse.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer la ayuda recibida en esta tesis, en primer lugar, a mis *Queridos Directores*, sin los cuales el proyecto no habría salido adelante. Gracias por vuestro tiempo y dedicación durante todo este período, especialmente en los últimos meses. Os estoy profundamente agradecida.

Agradezco a todos los integrantes del *Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca* que han facilitado la elaboración de este trabajo en mayor o menor medida, aunque haya sido simplemente dedicándome una sonrisa o palabras alentadoras.

A todos los que forman mi *gran familia* aquí en Murcia, no os voy a nombrar a todos porque ya sabéis quiénes sois. Estos cinco años en estas tierras no hubiesen sido lo mismo sin vosotros. Muchas gracias por estar aquí, ahora y siempre.

Y a mis *valencianas*, gracias por todos estos años de amistad, para que duren otros tantos, y porque hacéis de Valencia la ciudad a la que siempre quiero regresar.

A todos mis *hermanos*, por formar parte de mí incluso en la distancia, y por todos vuestros ánimos en los buenos y malos momentos.

A mi *padre*, gracias por creer en mí y por haberme inculcado la fuerza de voluntad y el afán de superación, entre otras muchas cosas.

A mi *madre*, gracias por todo el amor, cariño y fe que siempre has depositado en mí, gracias a los cuales sigo siempre hacia adelante.

Y por último, a mi hermanísima *Marta*, gracias por tu apoyo incondicional desde que no tengo memoria, y por todos los momentos de felicidad que todavía están por llegar.

A *todos*, gracias.

ABREVIATURAS

- SNP:** Sepsis neonatal precoz.
- SC:** Sangre de cordón.
- RN:** Recién nacido.
- RNBP:** Recién nacido de bajo peso.
- PCR:** Proteína C Reactiva.
- PCT:** Procalcitonina.
- IL-6:** Interleuquina-6.
- IL-8:** Interleuquina-8.
- TNF- α :** Factor de necrosis tumoral alfa.
- SIRS:** Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.
- SGB:** *Streptococcus agalactiae* tipo B.
- SCN:** Estafilococo coagulasa negativo.
- CI:** Control interno.
- UCIN:** Unidad de cuidados intensivos neonatal.
- CDC:** *Centers for Disease Control and Prevention*.
- pcr:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- ATB:** Antibiótico.
- RPM:** Rotura prematura de membranas.
- S:** Sensibilidad.
- E:** Especificidad.
- VPP:** Valor predictivo positivo.
- VPN:** Valor predictivo negativo.
- OR:** *Odds ratio*.
- IC:** Intervalo de confianza.
- LR+:** *Likelihood ratio* positivo.
- LR-:** *Likelihood ratio* negativo.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Fisiopatología de la sepsis.....	7
1.2. Introducción a la fisiopatología fetoplacentaria.....	11
1.3. Definición de sepsis neonatal.....	12
1.3.1. Sepsis neonatal precoz.....	13
1.3.2. Sepsis de transmisión tardía.....	13
1.4. Epidemiología.....	14
1.5. Etiología.....	15
1.6. Sintomatología de la sepsis.....	19
1.7. Factores de riesgo infeccioso.....	20
1.7.1. Relacionados con el neonato.....	21
1.7.2. Relacionados con la madre.....	24
1.8. Profilaxis de la sepsis neonatal.....	28
1.9. Diagnóstico de sepsis neonatal.....	29
1.9.1. Dificultad en el diagnóstico.....	29
1.9.2. Diagnóstico etiológico.....	30
1.9.3. Marcadores de sepsis.....	31
1.9.4. Marcadores bioquímicos en sangre de cordón.....	38
1.9.5. Hemocultivo.....	41
1.9.6. Biología molecular.....	41
1.9.7. Cuándo realizar el diagnóstico.....	44
1.10. Futuros campos de investigación.....	45
II. OBJETIVOS.....	47
2.1. Justificación e importancia del estudio.....	49
2.2. Hipótesis del estudio.....	51
2.3. Objetivos.....	52

III. SUJETOS Y MÉTODO.....	53
3.1. Diseño del estudio.....	55
3.2. Sujetos.....	57
3.2.1. Criterios de inclusión.....	57
3.2.2. Criterios de exclusión.....	58
3.2.3. Grupos de estudio.....	58
3.3. Método.....	60
3.3.1. Recogida de muestras.....	60
3.3.2. Parámetros de estudio.....	60
3.3.3. Protocolo de recogida de datos clínicos.....	61
3.3.4. Procesamiento de las muestras.....	62
3.3.4.1. Análisis hematológico.....	62
3.3.4.2. Análisis bioquímico.....	63
3.3.4.3. Análisis microbiológico.....	64
3.3.4.4. Procesamiento de la sangre de cordón.....	65
3.3.4.5. Técnicas de biología molecular.....	65
3.3.5. Análisis estadístico.....	70
3.3.6. Confidencialidad del estudio.....	72
IV. RESULTADOS.....	73
4.1. Estudio descriptivo.....	75
4.1.1. Características generales de la población de estudio.....	75
4.1.2. Características de los grupos de estudio.....	82
4.1.3. Descriptivo del grupo con sepsis neonatal precoz.....	102
4.2. Estudio analítico básico.....	110
4.2.1. Comparación de marcadores de variables cuantitativas..	110
4.2.2. Correlaciones bivariadas.....	121
4.2.3. Influencia de los factores de riesgo infeccioso sobre los marcadores de sepsis.....	131
4.2.4. Estudio analítico de los resultados de <i>Septifast</i>	153
4.2.5. Evolución de los <i>outliers</i> de los marcadores de sepsis...	157

4.3. Análisis multivariante.....	160
4.3.1. Regresión lineal múltiple.....	160
4.3.2. Regresión logística.....	166
4.4. Curvas ROC.....	168
<i>V. DISCUSIÓN.....</i>	<i>175</i>
<i>VI. CONCLUSIONES.....</i>	<i>205</i>
<i>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</i>	<i>209</i>

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son una causa importante de morbilidad y mortalidad en el período neonatal. Entre ellas, la sepsis temprana es considerada como una de las condiciones que amenazan la mayor parte de este período.

El diagnóstico de sospecha de la sepsis neonatal se fundamenta en una serie de factores de riesgo y de parámetros clínicos y analíticos inespecíficos, por lo que en muchas ocasiones resulta difícil valorar cuándo es conveniente iniciar tratamiento antibiótico (1).

Por otro lado, el diagnóstico de confirmación depende de los resultados de los hemocultivos, que en el período neonatal presentan menor rentabilidad debido a que el volumen de extracción es, muchas veces, insuficiente para detectar bacteriemias, ya que en algunos casos son intermitentes. De ahí la importancia de disponer de algún marcador bioquímico que nos permita predecir la probabilidad de infección, así como apoyar el diagnóstico de sepsis (2).

Por lo tanto, la identificación de herramientas para la detección rápida de sepsis temprana es un objetivo de gran relevancia en la medicina perinatal, ya que un diagnóstico precoz y exacto conduce a un tratamiento adecuado, mejorando así potencialmente el pronóstico final de estos pacientes.

En las últimas décadas se han realizado numerosos estudios de diferentes marcadores en sangre de cordón con la finalidad de adelantar el diagnóstico de sepsis en los casos de sospecha de sepsis neonatal. Por lo tanto, en este trabajo nos centraremos en el estudio de estos biomarcadores en sangre de cordón para el diagnóstico de sepsis neonatal precoz.

1.1. Fisiopatología de la sepsis

El cuerpo humano tiene muchas maneras de protegerse a sí mismo. Algunas son simplemente barreras físicas, como la capa externa dura de queratina de la piel, que protege de un ambiente hostil a las células situadas por debajo de la

misma. Otras son sustancias bioquímicas potentes que pueden proporcionar una protección relativamente inespecífica contra una amplia gama de microorganismos, por ejemplo, las lágrimas y muchas otras secreciones corporales contienen la enzima lisozima, que actúa dirigiendo y debilitando las paredes protectoras que rodean a las células bacterianas.

Y una barrera química más elaborada es la que proporciona el grupo de proteínas sanguíneas que constituyen la vía del complemento; estas proteínas median una cascada de reacciones enzimáticas que pueden ser desencadenadas por las características moleculares de la superficie de algunos microorganismos, y que pueden conducir finalmente a lisis o aumento en la fagocitosis del agente invasor.

Durante las infecciones intensas, el organismo también produce mayor cantidad de un grupo diferente de proteínas séricas conocidas como proteínas de fase aguda, algunas de las cuales tienen efectos antimicrobianos, por ejemplo, la proteína C reactiva (PCR) se fija a la denominada proteína C sobre la superficie de los neumococos y, así, promueve su destrucción por la cascada del complemento.

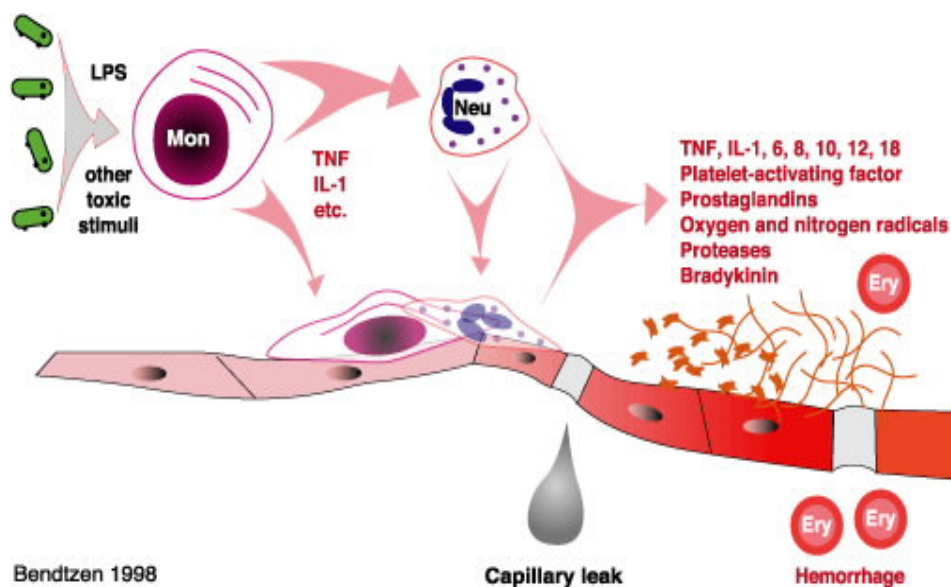


Figura 1: Mecanismos fisiopatológicos involucrados en la sepsis.

Pero las estrategias de defensa más complejas, dinámicas y eficaces son realizadas por células especializadas que se desplazan a través del cuerpo para buscar y destruir microorganismos y otras sustancias extrañas.

En los seres humanos hay tres grupos principales de células que proporcionan este tipo de defensa. Dos de éstas, los neutrófilos y la serie de monocitos-macrófagos, son células fagocíticas, que actúan principalmente englobando y digiriendo bacterias, desechos celulares y otras partículas de materia. El tercer grupo, constituido por los linfocitos y sus elementos relacionados, tienen poca capacidad fagocítica pero, en vez de esto, participan en un número considerable de otras reacciones de protección, que se conocen colectivamente como respuestas inmunitarias.

Tanto los fagocitos como linfocitos son esenciales para la salud, actuando frecuentemente en conjunto, y dependen entre sí en un grado considerable para su máxima eficiencia (3).

Podemos definir la inflamación como la respuesta no específica inicial ante la lesión tisular producida por un estímulo mecánico, químico o microbiano (4). Es una respuesta rápida, humoral y celular, muy amplificada pero controlada, en la cual la cascada de citoquinas, el complemento, la coagulación y la cascada fibrinolítica son disparadas en conjunto por la activación de los macrófagos y las células endoteliales por elementos bacterianos.

Esta respuesta local es considerada benigna y adecuada en tanto el proceso inflamatorio sea correctamente regulado. La reacción tiene componentes proinflamatorios y antiinflamatorios, y a veces estos últimos son iguales o mayores que los proinflamatorios.

Las citoquinas son pequeñas moléculas que se producen como mediadores endógenos en la respuesta inmune a la infección bacteriana, es decir, son mensajeros fisiológicos de la respuesta inflamatoria. Se trata de pequeñas moléculas proteicas o glicoproteicas cuya función fundamental es intervenir en la transmisión de información (señales) de una célula a otra. Se unen a receptores específicos de sus células blanco, provocando en estas células

modificaciones que llevan a la síntesis y liberación de mediadores secundarios.

Aunque muchas citoquinas juegan un posible rol en la patogénesis y todas éstas han sido aisladas y caracterizadas, sólo cinco citoquinas poseen un rol clínicamente importante como citoquinas proinflamatorias: el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), interleuquina 1 beta, interleuquina-6 (IL-6) e interleuquina-8 (IL-8) y los interferones.

La infección es el mayor estímulo para la liberación de citoquinas por la acción de moléculas bacterianas, como la endotoxina (LPS), que son reconocidas por células del sistema inmune innato. Los polimorfonucleares, monocitos-macrófagos y las células endoteliales son los efectores celulares de la respuesta inflamatoria.

En la mayoría de los casos, el efecto benéfico de los mediadores proinflamatorios supera sus efectos negativos. Éstos eliminan los tejidos dañados, promueven el crecimiento de los tejidos y combaten organismos patógenos, células neoplásicas y antígenos extraños. Para evitar que esos mediadores desarrollen efectos nocivos por sobrestimulación, el organismo rápidamente desarrolla una respuesta antiinflamatoria.

En esta reacción compensatoria intervienen citoquinas antiinflamatorias, como las interleuquinas 4 (IL-4), 10 (IL-10) y 11 (IL-11), receptores solubles y antagonistas de receptores. Su efecto es menos conocido que el de los mediadores proinflamatorios, pero parece que alteran la función de los monocitos y reducen la capacidad de las células de producir citoquinas proinflamatorias.

Otro componente fundamental del sistema es el endotelio. Normalmente las células endoteliales expresan un fenotipo anticoagulante, anti-adhesión celular y vasodilatador. Cuando son activadas, como en la inflamación, expresan propiedades procoagulantes y de pro-adhesión celular.

Las fuerzas antagónicas entre la inflamación y la antiinflamación pueden tender a un estado de equilibrio o desequilibrio. El desequilibrio con una

mayor respuesta inflamatoria produce un estado de shock profundo, con gran mortalidad, que se presenta de forma fulminante, siendo un ejemplo de ello la sepsis producida por el meningococo.

El predominio de la antiinflamación, lleva al paciente tras los primeros días de la sepsis a un estado de anergia o “parálisis inmunológica”. Esta situación define un cuadro llamado, en inglés, *Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome (CARS)*, que explica el aumento de sobreinfecciones, como las producidas por catéteres o heridas.

1.2. Introducción a la fisiología fetoplacentaria

La placenta es un órgano de estructura compleja, donde la circulación fetal y la materna establecen relaciones muy estrechas, permitiendo el intercambio de gases y sustancias nutritivas.

La placenta, además, tiene actividad metabólica y endocrina, que contribuye de forma decisiva al mantenimiento de la gestación; y, por otra parte, actúa como interfase inmune entre la madre y el feto (5). El intercambio de sustancias entre el feto y la madre es imprescindible para el desarrollo normal del embarazo.

Este paso de sustancias a uno u otro lado de la membrana vasculosinicial puede realizarse mediante los siguientes mecanismos:

- Difusión simple: condicionado por la concentración de sustancias, el gradiente químico o potencial eléctrico, que tienden a igualarse en los dos lados de la membrana.
- Difusión facilitada: la sustancia se une a sistemas portadores y es vertida al otro lado de la membrana.
- Transporte activo: sustancias con concentraciones o gradientes químicos más altos a un lado de la membrana pueden pasar al otro lado con gradientes más bajos, mediante este transporte activo con consumo de energía.

- Pinocitosis: consiste en la toma de microgotas del espacio intervelloso formando vacuolas en el interior del citoplasma, las cuales pueden ser vertidas en el departamento fetal.

- Paso directo: a través de pequeños desgarros de la membrana placentaria a la circulación materna.

El flujo sanguíneo del feto depende fundamentalmente del gasto cardíaco fetal y de la resistencia vascular placentaria y umbilical. En el caso de la gestación a término, a la placenta llega el 40% del gasto cardíaco fetal (6).

La sangre fetal llega a la placenta a través del cordón umbilical, que dispone de dos arterias que aportan sangre oxigenada (semejante a la venosa), y una vena que recoge sangre rica en oxígeno, que la incorporará al feto desde la placenta.

El cordón umbilical se origina a lo largo del embarazo por elongación del tallo corporal y une el feto con la placenta. Al final de la gestación, el cordón umbilical mide aproximadamente 50 centímetros, con variaciones fisiológicas, y tiene un grosor de 1,5 a 2,5 centímetros. Está revestido por el amnios y contiene tres vasos, dos arterias y una vena (7).

1.3. Definición de sepsis neonatal

La definición de sepsis se estableció en el año 1991, fecha en la que tuvo lugar el consenso de la *American College of Critical Care Medicine and Society of Critical Care Medicine (ACCM-SCCM)* para unificar los criterios en relación a las definiciones de sepsis, donde se propusieron nuevas definiciones sobre sepsis y los procesos relacionados.

En 1992 (8), en una nueva conferencia de la *ACCM-SCCM* se reintrodujo dentro del lenguaje común el término Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), definido como las manifestaciones clínicas de la respuesta inflamatoria ocasionadas por causas infecciosas y no infecciosas.

Posteriormente, Bone y colaboradores definieron la sepsis como la respuesta inflamatoria sistémica frente a la infección (9).

Un hecho importante en esta nueva terminología es que reconoce el rol fundamental que la inflamación sistémica juega en la sepsis, aceptando que las manifestaciones clínicas no están causadas solamente por factores relacionados a la patogenicidad microbiana, sino que implica una modificación conceptual en la evaluación de los pacientes críticos con infección; es decir, un cambio de perspectiva y no una nueva entidad clínica.

Por lo tanto, se define **sepsis neonatal** como la infección aguda con manifestaciones tóxico-sistémicas, ocasionadas por la invasión y proliferación de bacterias dentro del torrente sanguíneo y en diversos órganos, que ocurre dentro de las primero cuatro semanas de vida y es demostrada mediante hemocultivo positivo.

En relación al modo de contaminación, se pueden diferenciar dos grandes cuadros de sepsis en la época neonatal (10):

1.3.1. Sepsis neonatal precoz

La sepsis neonatal precoz o de “transmisión vertical”, en la que nos centraremos en el presente trabajo, se presenta generalmente como una enfermedad fulminante y multisistémica durante los primeros cuatro días de vida por transmisión vertical, ya sea por gérmenes localizados en el canal genital materno que contaminan al feto por vía ascendente, progresando por el canal del parto hasta alcanzar el líquido amniótico; o por contacto directo del feto con secreciones contaminadas al pasar por el canal del parto.

Por este motivo debe considerarse la posibilidad de sepsis siempre que se obtenga un cultivo positivo por bacterias patógenas en exudado de canal vaginal en el transcurso de las dos semanas anteriores al parto, ya que hay una creciente evidencia de que la infección comienza en el útero en un número significativo de recién nacidos con sepsis temprana (11).

1.3.2. Sepsis de transmisión tardía

Las sepsis de transmisión tardía se pueden clasificar según el lugar de adquisición del agente etiológico, por ello, se habla de sepsis de origen nosocomial y sepsis de origen comunitario.

Las “sepsis de origen nosocomial” son producidas por microorganismos procedentes del entorno hospitalario, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos neonatales, que colonizan al neonato por contacto del personal sanitario o a partir de material contaminado.

En cambio, las “sepsis de origen comunitario” son debidas a microorganismos que contaminan al recién nacido en su domicilio, siendo éstas muy infrecuentes. La clínica se inicia después de las 72 horas de vida, aunque puede comenzar antes, y el espectro de patógenos responsables de la infección es distinto al de la sepsis vertical, predominando los microorganismos gramnegativos y otras enterobacterias (12).

1.4. Epidemiología

A pesar de los avances en terapia antibiótica, de las medidas de soporte y del conocimiento de los factores de riesgo infeccioso, la sepsis continúa siendo causa importante y, quizás, inaceptablemente alta de mortalidad y morbilidad en las unidades neonatales.

Con respecto a la epidemiología de estos cuadros de sepsis neonatal, según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), del total de recién nacidos vivos en los países en vías de desarrollo (13), aproximadamente el 20% evoluciona a una infección, y el 1% fallecen debido a una sepsis neonatal. La incidencia en países desarrollados oscila entre 1/500 a 1/1600 recién nacidos vivos.

En los hospitales especializados, en la sepsis de inicio temprano o perinatal estas tasas son cercanas a 1/1000 recién nacido a término, 1/230 en recién nacidos de bajo peso y 164/1000 nacidos vivos en los prematuros de entre 1000 a 1500 gramos.

La sepsis tardía o intrahospitalaria a su vez afecta a un 2-5% de todos los recién nacidos hospitalizados y hasta un 15% de los recién nacidos ingresados más de 48 horas en las unidades de UCI neonatales.

Los estudios del Grupo de Hospitales Castrillo sitúan en España la incidencia de sepsis de transmisión vertical en 2,5 por 1000 recién nacidos vivos, y la de sepsis nosocomial en 2,1% de los ingresos en unidades neonatales, con una mortalidad del 8,7 y 11,8%, respectivamente. Las cifras son similares a las de otros países desarrollados como Estados Unidos, con una incidencia entre 1,5 y 3,5‰, y muy inferiores a las de los países empobrecidos (14).

1.5. Etiología

Los gérmenes que provocan la infección en el período neonatal varían según el tipo de sepsis (precoz o tardía), la epidemiología local de cada hospital y la variación sufrida a través del tiempo.

En general, el riesgo de desarrollar sepsis se debe, en parte, a la mayor vulnerabilidad de las barreras naturales y, por otro lado, a la madurez y capacidad del sistema inmune:

- La transferencia placentaria materna de IgG al feto comienza a las 32 semanas de gestación.
- IgA secretora está muy disminuida tanto en los pulmones como en el sistema gastrointestinal. Además, las barreras físicas naturales son inmaduras, especialmente piel, cordón umbilical, pulmón e intestino.
- Hay una disminución de la actividad de la vía alterna del complemento (C3), donde existe una deficiencia en la opsonización de los gérmenes con cápsula polisacárida.
- Los depósitos de neutrófilos maduros medulares se agotan rápidamente cuando hay exposición a una infección, y éstos tienen menor capacidad de adherencia y fagocitosis, y menor capacidad bactericida.
- La inmunidad mediada por el linfocito T helper y el linfocito natural killer está alterada, y la memoria inmunológica es deficiente.
- A mayor prematuridad hay mayor inmadurez inmunológica, y mayor frecuencia de infecciones.

Los microorganismos patógenos pueden contaminar al neonato a nivel de la piel y/o mucosas respiratoria o digestiva y, posteriormente, según sus características, dividirse y ser capaces de atravesar la barrera cutáneo-mucosa y alcanzar el torrente circulatorio (12).

Una vez en la sangre, si no existe una defensa inmunitaria competente, los gérmenes pueden comenzar a dividirse de forma logarítmica dando lugar a un cuadro de sepsis neonatal en el recién nacido.

Hasta la década de los 70, los principales agentes etiológicos eran los bacilos gramnegativos, siendo posteriormente reemplazados por el *Streptococcus agalactiae* grupo B, el cual llegó a explicar hasta más del 50% de las sepsis precoces (15).

- Estreptococo β hemolítico grupo B (SGB) o *Streptococcus agalactiae*

Es el germen más frecuentemente relacionado (50-60%) con sepsis neonatales de inicio precoz (16). La sepsis por SGB se ha asociado a una mortalidad entre el 5 y 20% en países desarrollados, y a un importante porcentaje de secuelas (30%) entre los supervivientes (17).

Se trata de un microorganismo coco grampositivo, anaerobio facultativo, que está rodeado por una cápsula compuesta principalmente por polisacáridos con propiedades antifagocíticas que, de acuerdo a su composición, permite clasificarlo en 7 serotipos: Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, además de otros serotipos adicionales provisionales.

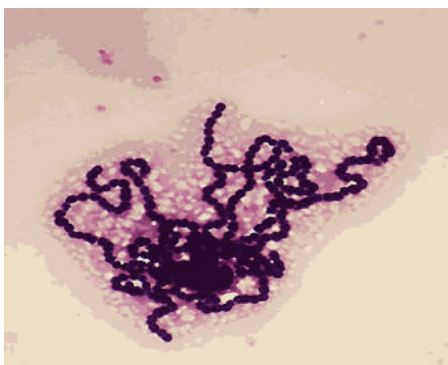


Figura 2: *Streptococcus agalactiae* en microscopía óptica.

Uno de los principales factores de virulencia de esta bacteria es la presencia de ácido siálico, componente de la cápsula, ya que disminuye la activación de la vía alterna del complemento, así como también la presencia de una neuraminidasa, de la cual no se conoce bien su rol patógeno (18), y además se caracteriza por presentar una alta concentración inhibitoria mínima (CIM) a la penicilina.

Este diplococo grampositivo presenta hemólisis completa al entrar en contacto con el medio de cultivo Agar sangre (hemólisis tipo β).

Entre los distintos serotipos, el tipo III es el más frecuentemente asociado a cultivos positivos en la madre (26%) y enfermedad en el neonato (64%) (15). Generalmente es adquirido durante el trabajo de parto, y es raro observarlo en neonatos nacidos por vía cesárea con membranas íntegras (19).

El SGB es hoy, en ausencia de medidas de prevención, la causa más frecuente de infección bacteriana perinatal de transmisión vertical en el mundo occidental (11). La exposición a SGB durante el nacimiento es común, lo que da como resultado la colonización de 1 de cada 10 recién nacidos, y la incidencia del proceso (sin medidas de prevención) alcanza hasta el 3% de recién nacidos vivos, con una mortalidad que en los años 1970 alcanzaba el 50%, y que se ha reducido al 4-5% como resultado de los avances de la neonatología (20).

Debido a la elevada morbilidad asociada a la sepsis por este germen, se han implementado medidas para evitar la transmisión vertical. El año 1992, la *Academia Americana de Pediatría* (AAP) recomendó realizar un cribado a las embarazadas entre las 26 y 28 semanas de gestación a fin de encontrar aquellas colonizadas con SGB.

Ese mismo año, el *Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología* (ACOG) recomendó el cribado basado en factores de riesgo, que incluía partos de pretérmino (edad gestacional menor a 37 semanas), antecedente de hijo previo con sepsis por SGB, bacteriuria por SGB en embarazo actual, rotura prematura de membranas de más de 18 horas, o fiebre intraparto (superior o igual a 38° C), ya que se asocia a una mortalidad entre 5 y 20% (21).

- *Escherichia coli*

Gracias a los protocolos de prevención implementados basados en profilaxis antibiótica anteparto contra el SGB, a partir del año 2001 ha disminuido la importancia del SGB como agente etiológico de sepsis precoz, y ha sido reemplazado en frecuencia por otras bacterias, siendo la *Escherichia coli* el agente causal que encabeza las nuevas casuísticas, volviendo así los bacilos gramnegativos a ocupar los primeros lugares como en décadas anteriores (17).

Este microorganismo se trata de un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, presente en la mayor parte de los intestinos de los mamíferos sanos, cuya función es necesaria para el correcto funcionamiento del proceso digestivo actuando como comensal de la flora intestinal ayudando así a la absorción de nutrientes, además de la producción de las vitaminas B y K.

En humanos, la *Escherichia coli* coloniza el tracto gastrointestinal del neonato, adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida.

Asociada a meningitis neonatal, se adquiere en el canal del parto y en menor proporción por infección nosocomial. En el estudio *WHO Young Infant Study* donde se incluyeron 360 neonatos, 26% de ellos presentaron cultivos positivos, donde el mayor crecimiento se debió a *Escherichia coli* (22).

- *Staphylococcus epidermidis*

Los estafilococos coagulasa negativos (SCN) constituyen una parte esencial de la flora comensal cutánea y mucosa del ser humano. Son los clásicos microorganismos oportunistas, que sólo poseen un escaso potencial patógeno en las personas inmunocompetentes.

Staphylococcus epidermidis es una especie bacteriana consistente en cocos grampositivos agregados en grupos, siendo responsable del 70-80% de las infecciones por SCN. Además, debido a la contaminación, las bacterias de esta especie son probablemente las más comunes halladas en los análisis de laboratorio.

El aumento de las infecciones por esta bacteria está en clara asociación con la mayor supervivencia de los recién nacidos prematuros y de muy bajo peso, las estancias prolongadas en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) y la exposición a dispositivos intravasculares así como el soporte nutricional; factores que ponen en riesgo a estos pacientes a adquirir sepsis por este microorganismo (23).

1.6. Sintomatología de la sepsis

El repertorio de los recién nacidos para expresar enfermedad es muy limitado, lo que hace difícil basar un diagnóstico sólo en elementos clínicos, pero sí ayuda a aumentar o disminuir una evaluación previa de riesgo.

En el caso de la sepsis neonatal, las condiciones diagnósticas en el recién nacido son diferentes respecto al adulto, en cuanto a temperatura corporal, frecuencias respiratoria y cardíaca, y parámetros hematológicos.

Los signos y síntomas de infección suelen ser sutiles; destacando entre ellos la inestabilidad térmica, el letargo y la dificultad en la alimentación, distensión abdominal y residuo gástrico bilioso, palidez terrosa de la piel, síndrome de dificultad respiratoria, signos de shock, síndrome convulsivo, hepatoesplenomegalia, signos de coagulación intravascular diseminada y signos localizados de infección de piel, cordón umbilical o articulaciones.

Es importante señalar que existen criterios objetivos que permiten sospechar una sepsis, como pueden ser la fiebre o hipotermia, taquicardia, taquipnea, alteración de la conciencia, oliguria, mala perfusión periférica e inestabilidad hemodinámica.

Los datos más frecuentes de signos y síntomas, aunque son inespecíficos de un diagnóstico temprano, se pueden clasificar en los siguientes grupos:

- Respiratorios: respiración irregular, taquipnea, apnea, cianosis, incremento súbito en los requerimientos de O₂, datos de neumonía, etc.
- Gastrointestinales: alimentación pobre, residuo gástrico mayor del 50%, vómito, diarrea, distensión abdominal, ictericia, hepatoesplenomegalia.

- Distermia: hipotermia, principalmente en el pretérmino, llegando incluso a evolucionar a un estado febril.
- Neurológicos: hipoactividad, hiporreactividad, hiporreflexia, letargia, irritabilidad, temblores, convulsiones, fontanela abombada, etc.
- Dermatológicos: palidez, piel marmórea, petequias, púrpura, esclerodermia, principalmente en el pretérmino.
- Acidosis metabólica persistente.

El diagnóstico de sepsis neonatal probada es difícil por el alto porcentaje de cultivos negativos, por ello se ha creado el término de sepsis clínica, basado en los síntomas que se originan del Síndrome de Respuesta Inflamatoria Fetal (SRIF) y las características clínicas anteriormente descritas.

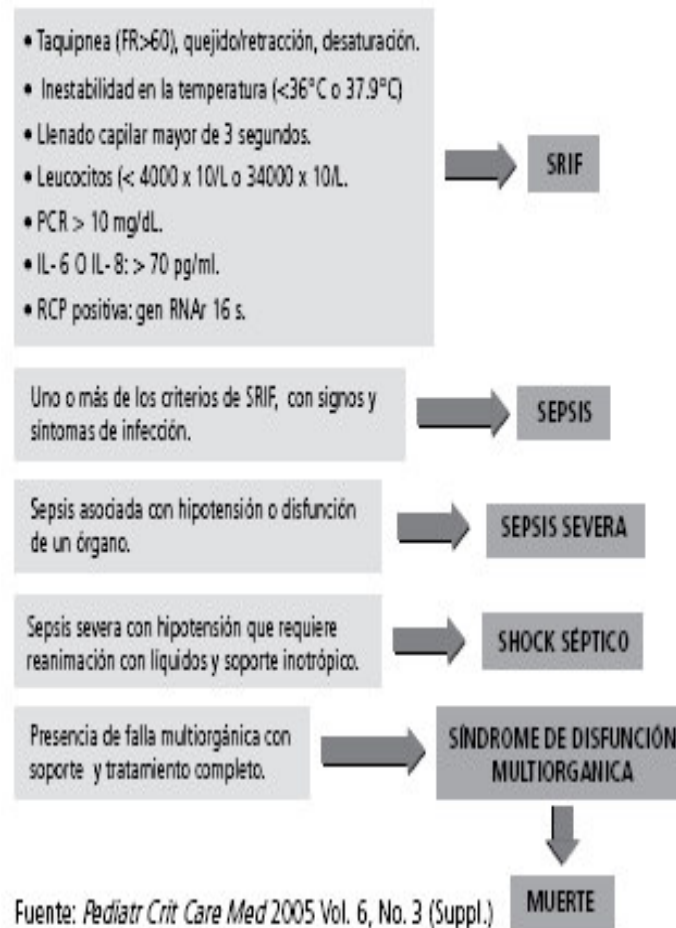


Figura 3: Respuesta inflamatoria fetal manifestada por dos o más de los siguientes criterios.

1.7. Factores de riesgo infeccioso

El factor de riesgo es toda aquella característica biológica, ambiental o social que cuando se presenta se asocia con el aumento en la probabilidad de presentar un evento, ya sea en el feto, en la madre o en ambos. En el caso de factor de riesgo infeccioso, la causa de presentar este evento es de tipo infeccioso.

Para la sepsis neonatal precoz, se pueden clasificar estos factores de riesgo infeccioso en función de su relación con el neonato o con la madre.

1.7.1. Relacionados con el neonato:

Los principales factores de riesgo que están presentes de forma independiente casi siempre en los recién nacidos infectados son:

- Prematuridad: Según la edad gestacional del recién nacido (RN), puede clasificarse en: RN pretérmino (menos de 37 semanas completas), RN a término (de 37 a menos de 42 semanas completas) y RN postérmino (42 semanas completas o más).

La prematuridad es considerada el factor único más importante de mortalidad y morbilidad perinatal, y la frecuencia de infección es inversamente proporcional a la edad gestacional, afectando a 19 de cada mil prematuros que nacen. Según la OMS (OMS 1970-77), el parto prematuro es el que ocurre antes de la semana 37 de gestación, mientras que la *American of Pediatrics Comité on the Fetus and Newborn* utiliza 38 semanas como límite superior.

Las alteraciones inmunitarias están relacionadas con la edad gestacional; mientras mayor sea el grado de prematuridad, mayor es la inmadurez inmunológica y, por tanto, aumenta el riesgo de infección, ya que la transferencia placentaria materna de Ig G al feto comienza a las 32 semanas de gestación (24). En los menores de 28 semanas, el riesgo de sepsis temprana es el doble que en los prematuros de 28 semanas (25).

El recién nacido depende, por tanto, de los anticuerpos maternos pasivamente adquiridos, los cuales son transmitidos vía transplacentaria desde las 24 a las 26 semanas de gestación. Además, los niños prematuros tienen significativamente menores niveles de anticuerpos Ig G que los niños nacidos a término (26).

- Bajo peso al nacimiento: Este factor de riesgo de forma aislada, constituye la causa más importante en el desarrollo de la sepsis neonatal. Se define como recién nacido de bajo peso (RNBP) a todos los recién nacidos con un peso al nacimiento inferior a 2500 gramos, independientemente de su edad gestacional.

La frecuencia de infección es inversamente proporcional al peso del nacimiento; por ejemplo, en prematuros de menos de 1500 g la tasa de infección nosocomial alcanza valores de entre el 15 y el 25%, y en menores de 1000 g suelen no ser inferiores a 40%. Se ha observado además que, aunque sólo el 2,4% de los neonatos de muy bajo peso ingresados en unidades neonatales tenía sepsis neonatal precoz confirmada con hemocultivo positivo, éstos tenían un riesgo tres veces superior de muerte o morbilidad neurológica (27).

Comparado con la incidencia general de infección, la incidencia del bajo peso al nacimiento es de hasta 26 veces para el grupo de menos de 1000 gramos, y el riesgo de infección para recién nacidos pretérmino es de 8 a 10 veces mayor que para el recién nacido a término (28).

- Asfixia perinatal: Definida como Test APGAR menor a 6 a los 5 minutos en presencia de rotura prematura de membranas, y considerada como un importante factor predictor de sepsis.

El puntaje o Test de APGAR fue diseñado en 1952 por la *Doctora Virginia Apgar* en el *Columbia University's Babies Hospital*, y consiste en una valoración del estado físico del recién nacido, que suele realizarse al minuto y a los cinco minutos después del parto.

Se basa en la puntuación de cinco factores que reflejan la capacidad del neonato para adaptarse a la vida extrauterina (aspecto o coloración de la piel, pulso o frecuencia cardíaca, reflejos y gesticulación, tono muscular o actividad, y respiración).

La puntuación al primer minuto evalúa el nivel de tolerancia del recién nacido al proceso del nacimiento y su posible sufrimiento, mientras que la puntuación obtenida a los 5 minutos evalúa el nivel de adaptabilidad del recién nacido al medio ambiente y su capacidad de recuperación. Un recién nacido con una puntuación más baja al primer minuto que al quinto, obtiene unos resultados normales y no implica anormalidad en su evolución.

El Test de APGAR ha demostrado a través de los años ser de gran utilidad para evaluar esta condición de recién nacido al momento de nacer.

- Internación prolongada en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN): la colonización del recién nacido en la UCIN tiene un patrón diferente al del niño normal como resultado del contacto materno escaso, la alimentación moderada, el tratamiento antibiótico y la exposición a la flora de estas unidades.

El *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, en un extenso estudio sobre control de infección nosocomial, calculó que los hospitales con una amplia y prolongada vigilancia tenían un 32% de posibilidades inferior de adquirir una infección que aquellos que no la tenían, por lo que estos programas de control y prevención suponen un ahorro considerable (29).

- Distrés respiratorio: el Síndrome de distrés respiratorio del recién nacido, también llamado “enfermedad de membrana hialina”, es sinónimo de dificultad respiratoria y comprende una serie de entidades patológicas. Es la causa más común de dificultad respiratoria en recién nacidos prematuros y la causa más frecuente de morbi-mortalidad neonatal, en correlación con la inmadurez estructural y funcional.

Típicamente afecta a recién nacidos con fiebre de 28 a 34 semanas de edad gestacional, afectando a un tercio de estos niños y siendo causada por déficit

de surfactante, sustancia tensoactiva que recubre los alveolos producida por los neumocitos tipo II.

Su incidencia aumenta inversamente respecto a la edad de gestación, de manera que afecta al 60% de los menores de 28 semanas de edad gestacional, pero ocurre en menos del 5% de los recién nacidos después de las semanas 28 a 34 (30). Esta condición es más común en los niños, y la incidencia es de aproximadamente seis veces mayor en los recién nacidos cuyas madres tienen diabetes (31).

Los signos y síntomas aparecen al nacimiento o poco tiempo después con clínica respiratoria franca, que incluye polipnea y signos de dificultad respiratoria progresiva (quejido, disociación toraco-abdominal, aleteo nasal, tiraje intercostal y retracción supraesternal) con cianosis central.

1.7.2. Relacionados con la madre:

Existen otros factores que por sí solos no justifican una evaluación de sepsis, y menos aún el empleo de antibióticos (ATB) en neonatos que no presentan signos clínicos anormales.

- Rotura prematura de membranas (RPM): se define como la emisión del líquido amniótico entre 1 y 12 horas antes del comienzo de las contracciones uterinas.

Se da en un 8% de las embarazadas, un 3% antes y un 5% después de las 37 semanas de gestación (32). La predicción exacta de la infección, incluyendo la corioamnionitis materna y la sepsis neonatal precoz, sigue siendo un importante desafío en estos casos.

La incidencia de sepsis en los neonatos de madres con este factor de riesgo es de 1%. Si a la RPM se le suman signos de corioamnionitis, la incidencia sube un 3-5% (33). Además, es más frecuente en los partos prematuros (32,6%) que en embarazos a término (6,3%).

Numerosos factores de riesgo están asociados a la RPM; las pacientes de raza negra tienen mayor riesgo de padecer RPM en comparación con las

pacientes de raza blanca (34). Otros pacientes con alto riesgo incluyen aquellas de bajo nivel socioeconómico, fumadoras, con historial médico de enfermedades de transmisión sexual, y que hayan presentado anteriormente RPM, sangrado vaginal o distensión uterina (35).

Tiene importantes repercusiones en los resultados perinatales, siendo causa de más del 30% de los partos pretérmino, además de un 10% de mortalidad perinatal. Las decisiones que se tomen pueden representar mayor o menor riesgo de infección pudiendo determinar diferentes tipos de intervenciones para terminar el embarazo (26).

Otras complicaciones de la RPM son: síndrome de distrés respiratorio (35%), compresión de la médula del recién nacido (32 a 76%), corioamnionitis (13 a 60%), desprendimiento prematuro de placenta (4 a 12%) y muerte fetal anteparto (1 a 2%) (36;37).

- Infección ovular (corioamnionitis): es una infección de las membranas placentarias y del líquido amniótico. Es poco frecuente, se presenta en un 1-2% de todos los embarazos, y en el 50% de los pretérminos que nacen antes de las 30 semanas (38).

En general, la definición de corioamnionitis varía según criterios diagnósticos claves, que pueden ser clínicos (presencia de típicos hallazgos clínicos), microbiológicos (cultivo microbiológico positivo de muestras de fluido amniótico o de corioamnios), o histopatológico (con evidencias microscópicas de infección o inflamación en el examen de la placenta o en muestras corioamnióticas).

Se diagnostica por la combinación de fiebre materna, leucocitosis, taquicardia materna, taquicardia fetal, sensibilidad uterina y olor fétido del líquido amniótico. Hay una asociación establecida entre infección intraamniótica, rotura prematura de membranas ovulares y parto pretérmino (39;40).

Los microorganismos pueden ascender a la cavidad amniótica por la vagina y el cérvix, por diseminación hematógena a través de la placenta (infección

transplacentaria), por siembra retrógrada por la cavidad peritoneal a través de las trompas de Falopio, o por introducción accidental durante los procedimientos invasivos como amniocentesis, toma de muestra de sangre fetal o de las vellosidades coriónicas.

La vía más frecuente es la ascendente, lo que se soporta en el hecho de que la corioamnionitis histológica es más común y severa en el sitio de ruptura de membrana. Las bacterias identificadas en casos de infecciones congénitas son similares a las de la flora encontrada en infecciones del tracto urinario; y en embarazos gemelares, la corioamnionitis histológica se observa frecuentemente en el primer gemelar, y muy pocas veces en el segundo (41).

- Colonización vaginal por SGB: este germen coloniza de forma habitual el tracto gastrointestinal inferior y vagina, pudiendo ser dicha portación transitoria, intermitente o crónica. La adquisición o recolonización es frecuente en mujeres sexualmente activas.

Se calcula que entre el 15 y el 25% de las mujeres embarazadas están colonizadas (genital y anal) por este germen (42). Varios estudios han demostrado que entre un 2 y un 34% de las embarazadas presentan colonización perineal durante el tercer trimestre, siendo esta colonización vaginal la que finalmente se trasmite e infecta al feto durante el trabajo del parto. Además, se conoce que 1-2% de los recién nacidos de madres colonizadas desarrollarán sepsis (17).

Si bien el SGB suele ser asintomático en las madres, puede ser causante de infección del tracto urinario, endometritis, corioamnionitis, sepsis, y rara vez, meningitis. También, se ha visto que existe una asociación importante entre la colonización materna por SGB y la rotura prematura de membranas. Esto se debe a la capacidad de este microorganismo de producir fosfolipasas y proteasas, generar prostaglandinas e inducir respuesta inmune, debilitando así las membranas fetales (43).

Como demuestran datos recientes, en ámbitos en los que se han instaurado programas de prevención, es posible reducir sensiblemente la incidencia de esta infección hasta el 0,26‰ (44).

- Infección urinaria: la presencia de ésta, sobretodo en el tercer trimestre del embarazo, constituye otro factor de riesgo importante, especialmente la no tratada o parcialmente tratada. Si se le suma el hecho de que, por lo general, no están documentadas con urocultivo, el tratamiento empleado suele ser empírico.

Comúnmente son causadas por gérmenes gramnegativos pertenecientes a la familia de las enterobacterias y pseudomonas, junto con algunos grampositivos (*Staphylococcus saprophyticus* y enterococos). La mujer es 30 veces más susceptible que el hombre de padecer infecciones en el tracto genitourinario, y durante el embarazo esta susceptibilidad es mayor. De ahí la importancia de vigilar cualquier síntoma urinario durante el embarazo debido a su asociación a la prematuridad y bajo peso al nacer (45).

- Fiebre intraparto (mayor a 37,5°C): es considerada como uno de los factores que más contribuyen a la susceptibilidad del neonato de adquirir una infección.

Existen estudios donde los neonatólogos han usado los factores de riesgo maternos intraparto como fiebre, RPM y corioamnionitis para determinar si a los neonatos asintomáticos se les debía realizar una evaluación de sepsis después del parto. Sin embargo, mientras estos factores de riesgo pueden significar que la infección materna podría afectar a la evaluación del recién nacido, estos autores indican que para mujeres con embarazo a término, la mayor parte de la fiebre materna durante el parto puede ser en realidad una consecuencia de la analgesia epidural (46).

Por otro lado, aunque la fiebre durante el parto se asocia con el uso de la analgesia epidural en mujeres con partos a término, y puede ser menos específico como factor de riesgo, en un estudio en el que se correlacionaba la presencia intraparto con la evaluación de sepsis en el recién nacido, se

encontró que más de un cuarto de los neonatos nacidos a término asintomáticos con sepsis neonatal precoz diagnosticada no fueron evaluados de sospecha de sepsis inmediatamente después del parto.

Por tanto, la mayoría de estos recién nacidos podían haber desarrollado síntomas sugestivos de infección en algún momento después del parto. El descubrimiento de un marcador de la corioamnionitis, en lugar de confiar en los síntomas clínicos como fiebre intraparto, sería de gran valor y, posiblemente, podría dar lugar a una disminución en las evaluaciones de las sepsis neonatales y la aplicación de tratamiento antibiótico en los recién nacidos (47).

1.8. Profilaxis de sepsis neonatal

La instauración precoz del tratamiento adecuado es muy importante para mejorar la evolución y el pronóstico de esta entidad clínica.

Por esta razón se hace necesario encontrar una prueba o pruebas diagnósticas con adecuada sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo, que permitan identificar al neonato infectado, evitando así la antibioterapia en el neonato no infectado.

Las estrategias de prevención actuales se basan en la detección de las madres portadoras de *Streptococcus agalactiae*, antibioterapia intraparto a las madres colonizadas y seguimiento del recién nacido.

En nuestro país, la *Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO)*, la *Sociedad de Neonatología (SEN)* y la *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*, han consensuado las siguientes recomendaciones basadas, fundamentalmente, en las de *CDC* de 1996 y en las aportaciones del Grupo de Hospitales Castrillo (21).

Estas pautas fueron actualizadas en 2003 y, posteriormente, en el 2010 (48), y se basan en los siguientes aspectos:

- Estudio de la colonización materna por SGB: se recomienda practicar cultivo recto-vaginal a todas las mujeres embarazadas entre la 35 y 37

semanas de gestación. El resultado debe estar disponible en el momento del parto.

- Indicaciones de profilaxis antibiótica: se recomienda profilaxis antibiótica en las siguientes situaciones: a todas las mujeres colonizadas por SGB independientemente de la edad gestacional, cuando se detecta bacteriuria por SGB durante la gestación, si existe un hijo previo afecto de sepsis a SGB, y si se desconoce el estado de colonización, si existe rotura de membranas ovulares mayor de 18 horas, fiebre intraparto superior o igual a 38° C, o parto espontáneo antes de la 37ª semana de gestación.
- Pauta de profilaxis antibiótica: se recomienda aplicar desde el principio de la dinámica del parto, Penicilina G sódica; y se considera profilaxis completa si se administran al menos 2 dosis con un intervalo de 4 horas. Como segunda elección, se administran 2 gramos (g) de Ampicilina al comienzo, seguido de 1 g cada 4 horas hasta el expulsivo.

El tratamiento antibiótico empírico del neonato debe iniciarse inmediatamente después de obtener las muestras para cultivos bacteriológicos. Debe realizarse teniendo en cuenta la flora presuntamente responsable y la susceptibilidad a los antibióticos.

En la sepsis de transmisión vertical, la antibioterapia debe cubrir SGB, enterobacterias (sobre todo *Escherichia coli*) y *Listeria monocytogenes* (poco frecuente en nuestro medio). Esto se consigue con la asociación Ampicilina y Gentamicina, con acción más sinérgica.

La duración del tratamiento ha sido establecida clásicamente en 10-14 días para la sepsis sin infección focal.

1.9. Diagnóstico

El diagnóstico debe plantearse ante un recién nacido con clínica compatible, siendo de gran ayuda la valoración de la presencia de factores de riesgo materno en la sepsis vertical, teniendo estos neonatos habitualmente uno o más factores de riesgo identificables.

Antes de iniciar una terapia antibiótica empírica es necesario realizar un chequeo infeccioso previo dirigido a precisar el diagnóstico etiológico y hacia la orientación de un cuadro séptico.

1.9.1. Dificultad en el diagnóstico

Cuando el agente etiológico causante de la sepsis invade en organismo del recién nacido, su sistema inmunológico se activa para defenderse. Pero, en ocasiones, puede ser fisiológicamente inmaduro en el recién nacido prematuro, cuyo déficit más importante en el mecanismo de defensa fagocitario del neonato es el fracaso en la producción y quimiotaxis de neutrófilos al sitio de infección. Los recién nacidos tienen una capacidad muy restringida de acelerar la producción de neutrófilos en reacción a un proceso infeccioso, y el depósito en la médula ósea es muy limitado, por lo que se agota rápidamente.

Además, ninguna prueba, ya sea clínica o de laboratorio, tiene suficiente valor predictivo para confirmar o descartar sepsis, por lo cual para mejorar la capacidad diagnóstica se han combinado diferentes pruebas, especialmente las de laboratorio. La sepsis neonatal es una enfermedad de alta severidad, por lo que se requieren exámenes complementarios que no fallen en ningún caso (es decir, con alta sensibilidad) y que detecten la sepsis cuando la enfermedad está presente (esto es, con alto valor predictivo positivo). El objetivo que tiene una prueba de laboratorio es ayudar a decidir al personal médico el inicio o no del tratamiento antibiótico. Por lo tanto, el test ideal sería aquel que tuviera una elevada sensibilidad y un elevado valor predictivo positivo.

Teniendo en cuenta que los resultados bacteriológicos tardan varios días en ofrecer resultados fiables, es necesario disponer de algún procedimiento de diagnóstico rápido que oriente la instauración o no de tratamiento antibiótico al recién nacido. Para descartar sepsis con un valor predictivo positivo del 100% se suele evaluar a los neonatos con riesgo de infección, obtenido al menos en las 12-24 horas después del nacimiento, usando la combinación de recuento leucocitario y la determinación de PCR.

1.9.2. Diagnóstico etiológico

El diagnóstico etiológico se basa en el aislamiento de un germen patógeno en un líquido corporal habitualmente estéril.

En el caso de sospecha de sepsis neonatal, los estudios a realizar son los siguientes:

- Hemocultivo: considerado como el “patrón de oro” para el diagnóstico de sepsis.
- Líquido cefalorraquídeo (LCR): su importancia radica en que el 20-25% de las sepsis neonatales están asociadas a meningitis.
- Urocultivo: la muestra debe ser obtenida por punción vesical suprapúbica o por cateterización de la uretra. El urocultivo en neonatos de menos de 72 horas de vida tiene baja sensibilidad (inferior a 0,5%), y en ausencia de anomalías anatómicas conocidas no está recomendado.
- Cultivo de exudados periféricos: tiene valor orientativo sobre la etiología en la sepsis vertical. Su positividad indica contaminación, pero la positividad de 3 o más exudados al mismo germen, en presencia de clínica séptica y hemocultivo negativo, es de gran valor para orientar el germen responsable.

1.9.3. Marcadores de sepsis

Silbergeld y Davis hablan de marcadores biológicos para referirse a señales fisiológicas inducidas por un xenobiótico que reflejan una exposición, una respuesta celular precoz o una susceptibilidad inherente o adquirida, proporcionando una estrategia para la resolución de estos problemas (49). Así, la propuesta de un biomarcador debe basarse en el conocimiento del mecanismo de respuesta del mismo.

Otras características que los biomarcadores deben poseer son la reproducibilidad, sensibilidad, especificidad, reversibilidad, aplicabilidad, facilidad de uso y relación coste/efectividad adecuado. Es fundamental que el tiempo de respuesta del biomarcador sea corto, de forma que éste pueda ser

utilizado como “sistema de alarma temprano”; y si muestra valor diagnóstico, éste podrá ser entonces utilizado de forma predictiva.

Por tanto, un marcador de sepsis neonatal debería, por un lado, permitir un diagnóstico precoz de forma sensible (diferenciar entre causa infecciosa o no ante una inflamación) y, si es posible, informar acerca del pronóstico (50).

Se han evaluado distintos parámetros en las últimas décadas para el diagnóstico precoz de la sepsis neonatal. Los más estudiados hasta momento son el recuento de glóbulos blancos, el número total de neutrófilos, la proporción de neutrófilos inmaduros, la Proteína C Reactiva, la Procalcitonina y las citoquinas.

Por todo ello, los principales marcadores más ampliamente utilizados en la evaluación de sospecha de sepsis neonatal, y en los que centraremos este estudio, son los siguientes:

- Parámetros hematológicos

Respecto a los parámetros hematológicos, tienen una alta inespecificidad y la medición de los leucocitos en sangre periférica y su estudio diferencial, probablemente, es la prueba inespecífica más rápida y útil de obtener.

Hace varias décadas se demostró que el conteo leucocitario podía ser normal en la tercera parte de los recién nacidos infectados (51).

Numerosos estudios demuestran que no se puede considerar un solo hallazgo aislado para el diagnóstico de sepsis, incluso se han dado puntajes a cada una de las variables estudiadas. El conteo de leucocitos y neutrófilos absolutos, la relación de neutrófilos inmaduros/maduros, cambios en la morfología o degeneración como la vacuolización, bacterias intracelulares, granulaciones tóxicas, deben ser estudiados y analizados individualmente y en conjunto. En estos análisis la sensibilidad es variable, reportándose datos desde 40-90%, sin que se relacione directamente el tipo de germen, lo que, entre otros factores, podría afectar los resultados (52).

Debido a esta variabilidad en la sensibilidad de los parámetros hematológicos de forma individual, varios autores han propuesto estrategias en la obtención de *ratios o scores* que combinan algunos de estos parámetros.

El rendimiento de estos sistemas de puntuación según varios autores se puede observar en la siguiente tabla, en función de las horas de vida del neonato (1-7 horas y 12-24 horas después del nacimiento) (53).

Tabla 1. Rendimiento de sistemas de puntuación hematológicos según diversos autores para el diagnóstico de sepsis neonatal precoz por SGB en las primeras 24 horas de vida del recién nacido (53).

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Recuento hematológico inicial (1-7 horas después del nacimiento)				
<i>Manroe y cols.</i>	68	45	43	70
<i>Rodwell y cols.</i>	63	55	46	71
<i>Spector y cols.</i>	31	90	67	68
Recuento hematológico a las 12-24 horas				
<i>Manroe y cols.</i>	100	50	56	100
<i>Rodwell y cols.</i>	100	73	73	100
<i>Spector y cols.</i>	53	83	67	73

VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo.

Estos datos sugieren que recuentos hematológicos tempranos aportan poca información diagnóstica en la evaluación de cualquier neonato con o sin sintomatología con una posible infección bacteriana.

Por otro lado, en ausencia de hipertensión materna, asfixia grave, hemorragia periventricular, fiebre materna o enfermedad hemolítica, la neutropenia total absoluta y una relación elevada entre las formas neutrofílicas inmaduras y las totales sugieren firmemente una infección bacteriana (17).

La presencia de neutropenia se asocia a un mal pronóstico, ya que generalmente indica disminución de la reserva de neutrófilos en médula ósea, disturbios en la liberación de éstos a la periferia e ineficacia de las células madre para responder a las demandas (39).

La trombocitopenia (recuento de plaquetas inferior a 150.000/mL) se relaciona con infecciones severas, sobretodo producido por hongos, en menor proporción por bacterias gramnegativas, virus y poca asociación con gérmenes grampositivos. Se relaciona con una combinación de lesión difusa de la célula endotelial, toxinas bacterianas y fúngicas, aumento de la activación plaquetaria y coagulación intravascular diseminada, lo cual implica un incremento del consumo de plaquetas (41), así como una respuesta limitada de su producción y de trombopoyetina, siendo predictores de mal pronóstico (54;55).

Además, se pueden utilizar otros parámetros para valorar el tipo de infección bacteriana.

El índice de granulocitos inmaduros indica el número de células inmaduras en sangre periférica que es normalmente bajo, pasando desapercibido en el conteo leucocitario, donde se observan de 100 a 200 células. Algunas de estas células (promielocitos, mielocitos o metamielocitos) pueden observarse en condiciones fisiológicas, como en el embarazo y en el período neonatal, patológicas como infecciones bacterianas, tumores sólidos o síndromes mieloproliferativos, o en situaciones asociadas a intervenciones quirúrgicas.

El cociente entre los neutrófilos inmaduros y el número total de neutrófilos es, asimismo, un parámetro utilizado habitualmente para el diagnóstico de sepsis, considerándose normal un valor mayor a 0,2 (o superior a 0,3 en las primeras 24 horas de vida del neonato).

- Proteína C Reactiva

La Proteína C Reactiva (PCR) es una proteína que se encuentra en la sangre como respuesta a una inflamación, por ello se dice que es una proteína de fase aguda.

Se produce en las células intestinales, y también por los adipositos, como respuesta a un aumento de IL-6 (producido predominantemente por macrófagos y también por adipocitos) en la concentración de plasma tras el estímulo inflamatorio.

Su función exacta no es conocida, pero se conoce que activa el complemento y tiene funciones al interactuar con las células fagocíticas. Al parecer actúa en la primera línea de defensa inmunológica, cumple funciones en el metabolismo lipídico y contribuye en la patogenia de enfermedades como la arteriosclerosis y el infarto del miocardio (56).

Los niveles normales de esta proteína se incrementan en 6 horas y llegan al máximo en 48 horas (57). Su vida media es constante y, por lo tanto, su nivel está determinado principalmente por la tasa de producción y, por tanto, por la gravedad de la causa.

En la actualidad, es una de las pruebas más utilizadas tanto para establecer el diagnóstico para monitorizar la respuesta al tratamiento. Es una prueba de laboratorio que presenta gran sensibilidad, pero baja especificidad (58).

Los valores normales de las primeras 48 horas están en torno a 1,5 mg/mL. Debe considerarse que no sólo se altera en presencia de infección, sino también se eleva en asfixia neonatal, aspiración meconial, trabajo de parto prolongado, Síndrome Hipertensivo Severo Inducido por el Embarazo, o en casos de hemorragia intracraneal.

Respecto a la relación entre los niveles de PCR y los factores de riesgo intraparto anteriormente mencionados, un estudio muestra que algunos de los principales factores de riesgo pueden causar una elevación de esta proteína en ausencia de infección (59).

Esto puede ser debido a que hasta que la PCR no atraviesa la placenta, los niveles elevados son debidos a la producción de PCR en el neonato; aunque existen pocos estudios longitudinales que evalúen los cambios en los niveles de PCR en neonatos sanos con factores de riesgo infeccioso intraparto. En este mismo estudio, se muestra que el punto de corte de los niveles de PCR en sangre de cordón puede diferir para muestras de cordón y para muestras séricas a las 24 horas.

- Procalcitonina

La Procalcitonina (PCT) es una prohormona que se produce en las células C de la glándula tiroides. Es la precursora de la Calcitonina y, en situaciones normales en el hombre, los niveles sistémicos son indetectables o menores a 0,1 ng/mL.

Tiene una vida media en suero de 25 a 30 horas, y es importante tener en cuenta la elevación fisiológica de este marcador en las primeras 48 horas de vida, por lo que puede complicarse la interpretación de los resultados durante este período.

Durante la inflamación de causa infecciosa, la PCT se eleva más rápidamente que la PCR, lo que la convierte en un predictor precoz de gravedad y mortalidad, sin embargo, esto no se puede aplicar a neonatos ya que tienen un pico fisiológico en las primeras 48 horas, motivo por el cual la especificidad no supera el 65%, teniendo además un pobre valor predictivo positivo (50).

En la sepsis neonatal tardía o de origen nosocomial es importante la medición de PCT, ya que varios estudios han determinado una alta sensibilidad y especificidad; no se debe solicitar de forma aislada, pero sí debe ser parte del perfil bioquímico solicitado a estos pacientes (60). Es importante mencionar que la elevación de PCT se presenta en infecciones de origen bacteriano, micótico o parasitario, mientras que los procesos provocados por virus no presentan elevación de la PCT (61).

La PCT no es un marcador de infección, es un marcador de infección grave, habitualmente generalizada, y es en estos casos cuando los niveles de este marcador (que también se produce en otros tejidos distintos de la tiroides en los cuadros sépticos) pueden incrementarse por encima de 100 ng/mL.

No se conocen con claridad los efectos de la PCT, pero se le reconoce como parte de la respuesta inflamatoria sistémica y su relación con citoquinas o su aumento de producción, como respuesta a endotoxinas (59).

Los aumentos de PCT se suelen dar en infecciones bacterianas, parasitarias y por hongos, con manifestaciones sistémicas. A diferencia de otros marcadores bioquímicos, en las infecciones virales graves o cuando ocurre inflamación sistémica grave sin infección, no suele haber aumento de ésta o, si lo hace, aumenta mínimamente, sin relación con la magnitud de la respuesta general del organismo (62). Por lo que la PCT es un marcador temprano de sepsis grave.

En diferentes estudios se ha visto que los niveles séricos de PCT se correlacionan con la severidad de la invasión microbiana y disminuyen rápidamente después del tratamiento antibiótico adecuado. En uno de éstos, los autores concluyen que las concentraciones de PCT y PCR en neonatos con sepsis neonatal precoz se encuentran aumentadas, siendo este incremento mayor en los niveles de PCT (63).

- Interleuquinas

En la última década se ha publicado un gran número de trabajos que han estudiado distintas citoquinas (64).

Las más estudiadas han sido las interleuquinas: 1- β , 6, 8 y el factor de necrosis tumoral (TNF α). También se han utilizado como marcadores de infección los receptores solubles de las citoquinas, que se elevan en sangre en procesos infecciosos; siendo el más estudiado el receptor soluble de la IL-2 (IL-2Rs) (65). En nuestro estudio nos centraremos en la IL-6.

La IL-6 es una glucoproteína (citoquina pleiotrópica) segregada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, con una amplio rango de funciones. Localizada en el cromosoma 7, su liberación está inducida por la IL-1, y se incrementa en respuesta al TNF- α . Es una citoquina con actividad antiinflamatoria y proinflamatoria.

Es un pirógeno endógeno que estimula en la hipófisis la producción de ACTH, interviene en la producción de inmunoglobulinas, en la diferenciación de linfocitos B, activa a los linfocitos T citotóxicos, células plasmáticas,

modula la hematopoyesis y es la responsable, junto a la IL-1, de la síntesis de proteínas de fase aguda como la PCR en el hígado (58).

Alcanza su pico máximo a las 2 horas del inicio del estímulo bacteriano, por lo que sus niveles pueden encontrarse elevados antes del inicio de los síntomas y antes de que se eleven los marcadores utilizados de rutina, como la PCR (66).

La producción de IL-6 es rápidamente inducida en el curso de las reacciones agudas inflamatorias asociadas a heridas, traumatismos, situaciones de estrés, infección, neoplasias y otras causas.

Como ya han mostrado estudios anteriores (67), el uso de biomarcadores de sepsis como la PCT, PCR y la IL-6 en suero facilita el diagnóstico de sepsis, incluso antes de la aparición de las manifestaciones clínicas. Sin embargo, a pesar del número de pruebas disponibles, ninguno de estos marcadores es absolutamente fiable y preciso de un diagnóstico precoz.

Las variaciones de las concentraciones de los principales marcadores bioquímicos de sepsis después de una inyección intravenosa de endotoxina se pueden observar en el siguiente diagrama.

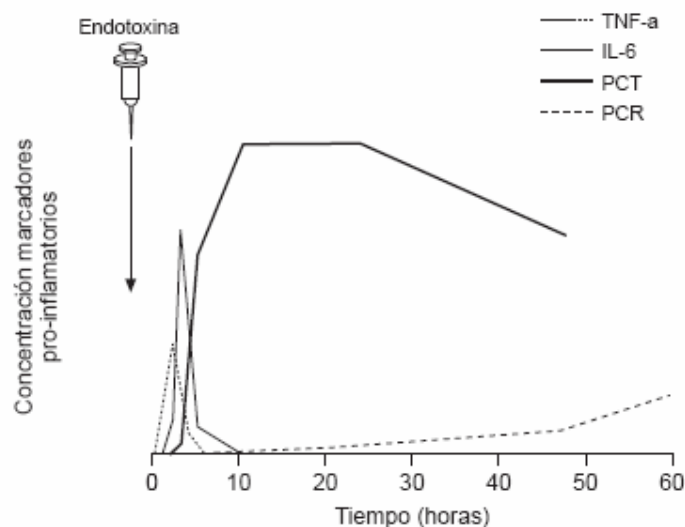


Figura 4: Diagrama de las variaciones en las concentraciones de los marcadores bioquímicos de sepsis TNF- α , IL-6, PCT y PCR (68).

1.9.4. Marcadores bioquímicos en sangre de cordón

La determinación de los marcadores bioquímicos en sangre de cordón puede ser útil en el diagnóstico de la sepsis neonatal precoz, tal como muestran estudios realizados en la última década, como vamos a detallar a continuación. La relevancia clínica de estas mediciones radica en que pueden obtenerse el mismo día del nacimiento sin recurrir a la venopunción del recién nacido. Así se puede evaluar el riesgo de sepsis congénita incluso si la madre no tenía una amniocentesis, y los resultados podrían estar disponibles antes de que se generara el informe patológico placentario.

Respecto a la PCR, las concentraciones de plasma de cordón umbilical han resultado más elevadas en pacientes con invasión microbiana de la cavidad amniótica y funisitis. Según varios estudios, los valores de PCR en sangre de cordón a partir de 0,02 mg/dL podrían utilizarse para modificar el índice de sospecha que el neonato ha sido expuesto a un microorganismo antes del nacimiento o tiene una respuesta inflamatoria (69).

Además, un elevado nivel de PCR junto con los resultados del recuento total de glóbulos blancos, diferencial y recuento total de plaquetas en sangre de cordón umbilical podría ser informativo en la evaluación del riesgo de sepsis neonatal, encontrándose una relación significativa entre las concentraciones de PCR e IL-6 (70).

Existen estudios en sangre de cordón donde las medidas de PCT muestran que se trata de un marcador sensible y específico de infección antenatal, con un alto valor predictivo positivo y negativo, además de presentar una buena razón de probabilidad positiva y negativa, y parece ser más fiable que la PCR (71).

En cuanto a la IL-6, existen estudios donde la determinación en sangre del cordón umbilical alcanzó una sensibilidad de 87-100% y un valor predictivo negativo entre 93 y 100%. Al comienzo de la infección poseía una alta sensibilidad (89%) y un valor predictivo negativo del 91%, sin embargo, al tener una vida media muy corta, sus valores en sangre caen rápidamente tras

la instauración del tratamiento. Por el contrario, a las 24 horas de vida del recién nacido, en muchos pacientes los valores en sangre son indetectables; la sensibilidad cae después de 24 y 48 horas (67% y 58% respectivamente) del comienzo de la sepsis (72;73).

La elevación de los niveles de IL-6 en sangre materna y en cordón umbilical en partos pretérmino se ha relacionado también con mayor morbilidad y mortalidad en el período neonatal, tanto con sepsis neonatal precoz como con otras enfermedades no infecciosas. Además, se ha visto que la presencia de corioamnionitis y una elevación de los niveles de IL-6 en sangre de cordón pueden darse en neonatos no infectados (59;74).

Por otro lado, se ha podido comprobar que la IL-6 en sangre de cordón parece ser un marcador predictivo de sepsis temprana en neonatos prematuros con rotura prematura de membranas. La IL-6 debe considerarse un marcador de infección precoz, con alta sensibilidad al interpretarse junto a la PCR en las primeras 48 horas de infección (75).

En la actualidad, existen diferentes investigaciones que se centran en el estudio de estos marcadores bioquímicos en sangre de cordón para el diagnóstico de los cuadros de sepsis neonatal precoz (76;77).

Como resumen, en la siguiente tabla se muestran los resultados de la evaluación de la IL-6 y la PCR en sangre de cordón realizada por *Cernada y cols.* (78) en 128 neonatos diagnosticados de sepsis neonatal precoz con sepsis confirmada con hemocultivo positivo en 5 casos, obteniendo como mejor predictor de sepsis la IL-6, además de ratios de probabilidad positivo y negativo superiores a los de la PCR.

Y un segundo estudio realizado por *Joram et al.* (71) en 197 neonatos con sospecha de infección, donde a 16 de ellos se les diagnosticó de sepsis neonatal precoz.

Actualmente, se están realizando numerosos estudios, predominantemente en sangre de cordón, para la observación del comportamiento de estos marcadores bioquímicos en el diagnóstico de sepsis neonatal precoz.

Tabla 2. Valores de Sensibilidad (S), Especificidad (E), Valor predictivo positivo (VPP) y Valor predictivo negativo (VPN) de la IL-6 y de la PCR en sangre de cordón de neonatos con factores de riesgo prenatal (78), y de la PCT (71).

Biomarcadores de sepsis	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)
IL-6 (Punto corte: 255,87 pg/mL)	90	87,4	37,5	99
PCR (Punto corte: 0,1 mg/dL)	60	79	19,4	95,9
PCT (Punto corte: 0,5 ng/mL)	87,5	98,7	87,5	98,7

1.9.5. Hemocultivo

Las bacterias causantes de la infección en la sepsis neonatal se identifican mediante el hemocultivo, considerado como estándar de oro, que permite además determinar la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos.

El cultivo bacteriológico es el método más utilizado y valioso en la clínica, sin embargo, como prueba de diagnóstico en muestras de sangre neonatal tiene baja sensibilidad y especificidad para la detección de los agentes causales de la infección. Este hecho se relaciona con el poco volumen (inferior a 1 mL) de sangre que se puede extraer al recién nacido. Además, una limitante adicional del hemocultivo es que tarda hasta cuatro días para obtener el resultado del laboratorio, y no logra analizar el contenido total de las bacterias que pudieran ser de interés para identificar la etiología de la enfermedad.

Las técnicas de cultivo automatizadas o semiautomatizadas que se basan en la detección de CO₂ producido por el metabolismo bacteriano, permiten informar la positividad de los hemocultivos en menos de 24 horas.

A pesar de esto, la positividad de los hemocultivos en sepsis neonatal no supera el 80-85% en los mejores centros, por lo que un resultado negativo en presencia de factores de riesgo y clínica compatible no descarta la infección.

Por estas razones se requieren metodologías que permitan análisis rápidos, precisos y de alta sensibilidad que ayuden a los neonatólogos y al cuerpo médico responsable, lograr una evaluación oportuna y un mejor tratamiento de casos clínicos y subclínicos de sepsis neonatal.

1.9.6. Biología molecular

La amplificación de segmentos definidos del ácido nucleico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (*pcr*) comenzó en la investigación básica, pero su aplicación se ha incorporado en los laboratorios de microbiología clínica y de la salud, en los que se han logrado importantes avances para identificar la etiología de los procesos infecciosos.

A diferencia del cultivo bacteriológico, la *pcr* requiere mínimas concentraciones del DNA (pg/mL). Recientemente se han sintetizado iniciadores bacterianos para la amplificación de la región pequeña del gen 16S ribosomal (16S rDNA). El 16S rDNA está presente en todas las bacterias, es altamente conservado y tiene secuencias infinitas, lo que permite diferenciarlas entre cada especie de bacteria (79). El uso del 16S rDNA permite explorar en un solo paso a todas las bacterias contenidas en diversas muestras biológicas, lo que la convierte en un buen marcador respecto a otros genes bacterianos (80).

Aunque la *pcr* ofrece ventajas sobre el cultivo bacteriológico, tiene una serie de limitaciones.

Primero, se requiere que el DNA blanco sea de buena calidad sin fragmentaciones y las muestras biológicas contienen enzimas como endonucleasas y dnasas, las cuales degradan el DNA. En segundo lugar, las muestras de sangre contienen diferentes componentes estructurales como anillos de porfirinas que interfieren con la actividad de la TaqDNApolimerasa, lo que reduce la eficiencia de la amplificación y puede dar falsos negativos. Y, en tercer lugar, en la obtención de la muestra y en la extracción del DNA, puede haber contaminación con otras bacterias que no necesariamente corresponden a las de la muestra de origen.

En los últimos años, se han realizado estudios que evalúan una nueva técnica de detección de microorganismos mediante *pcr* a tiempo real como una herramienta más en el diagnóstico microbiológico de sepsis.

El *Test SeptiFast* (Roche Diagnostics®) es una técnica “multiplex” por *pcr* a tiempo real capaz de detectar 25 microorganismos, siendo éstos los más frecuentemente encontrados en las infecciones sanguíneas. Mientras que los métodos microbiológicos detectan sólo microorganismos viables, esta prueba detecta tanto los viables como los no viables además del ADN no microbiano.

Las cepas objeto de detección se indican en la siguiente lista de la prueba *SeptiFast*.

Figura 5. Especies de microorganismos detectados por el *Septifast*, clasificados en Gramnegativos, Grampositivos y hongos.

Gram (-)	Gram (+)	Fungi
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Klebsiella (pneumoniae/oxytoca)</i>	CoNS ¹	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterobacter (cloacae/aerogenes)</i>	<i>Streptococcus spp.</i> ²	<i>Candida glabrata</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i> ³		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		

Algunos de estos estudios, como el realizado por *Lehmann y cols.*(81) en un estudio retrospectivo observacional de 436 pacientes con sepsis, muestran una coincidencia entre los microorganismos aislados mediante el hemocultivo y esta nueva técnica (*LightCycler SeptiFast PCR Test*) de un 38% en el caso de microorganismos grampositivos, un 26% para gramnegativos y un 6% para hongos. Aunque también se dieron casos en los que sólo daba positivo el hemocultivo, o casos en los que sólo fueron identificados microorganismos mediante la técnica del *SeptiFast*.

Otros estudios (82), evalúan las ventajas obtenidas de la extracción automatizada de ADN bacteriano (*MagnaPure Compact*), en lugar de la extracción manual. Para ello, se estudiaron 72 pacientes con SIRS y sospecha

de sepsis, y se encontró una reducción del flujo de trabajo de 6,54 a 3,56 horas en la extracción del ADN, no afectando a la sensibilidad o especificidad del test de detección de microorganismos por *pcr* a tiempo real.

Jordan y cols. realizaron un estudio que incluyó 548 recién nacidos comparando *pcr* con hemocultivos, encontrando alto valor predictivo negativo y positivo, así como una alta sensibilidad y especificidad. Los resultados de *pcr* antes de 18 horas del nacimiento podrían ayudar a descartar la sepsis neonatal temprana, lo que provocaría menor uso de antibióticos y disminuiría la estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal (UCIN). Actualmente, su positividad se ha incorporado en la definición de sepsis probada. Su inconveniente es el alto coste para la aplicación de la prueba y la disponibilidad limitada en los laboratorios convencionales (83).

1.9.7. Cuándo realizar el diagnóstico

Las enfermedades infecciosas son una importante causa de morbilidad y mortalidad en el período neonatal. Un adecuado diagnóstico precoz que conduzca a un tratamiento apropiado podría evitar el pronóstico final de estos pacientes. Por ello, cualquier herramienta que identifique de forma rápida una sepsis neonatal precoz es un objetivo de gran relevancia en la medicina perinatal.

Existe una creciente evidencia de que la infección comienza en el útero en un significativo número de neonatos con sepsis neonatal precoz. Muchos de ellos son asintomáticos en las primeras horas de vida, y se ha visto que las madres con colonización bacteriana y/o otros factores de riesgo infeccioso tienen mayor probabilidad de dar a luz niños con bacteriemia ya presente en el nacimiento (84).

Como se ha mencionado, se han evaluado muchos parámetros biológicos o marcadores de sepsis en las últimas décadas, entre ellos distintos parámetros hematológicos, o proteínas como la PCR o la PCT, y algunas citoquinas. Sin embargo, a pesar de los numerosos tests disponibles en la actualidad, ninguno de ellos es absolutamente fiable, por lo que muchos neonatólogos a menudo

comienzan el tratamiento antibiótico en neonatos con factores de riesgo infeccioso, exponiendo a muchos de estos pacientes a un tratamiento innecesario.

Por todo esto se hace tan importante el momento del diagnóstico, ya que un diagnóstico precoz y preciso conduciría a un tratamiento adecuado, y evitaría tratamientos innecesarios a recién nacidos. Una forma de realizar este diagnóstico temprano podría ser el estudio de biomarcadores de sepsis en muestras de sangre de cordón como planteamos en este estudio.

1.10. Futuros campos de investigación

No cabe duda de que un diagnóstico temprano de la infección es decisivo para una correcta orientación terapéutica y un pronóstico favorable en el paciente infectado. Sin embargo, en la práctica clínica diaria, los métodos convencionales de diagnóstico de las enfermedades infecciosas se enfrentan a ciertas dificultades relacionadas con la falta de precisión, lentitud y problemas técnicos.

Estas limitaciones no sólo han propiciado el desarrollo de técnicas de diagnóstico más eficaces y automatizadas, como ya hemos comentado anteriormente, sino que también han supuesto en la comunidad científica un desafío estimulante en la búsqueda de nuevos biomarcadores de infección.

Los avances producidos en los últimos años en las diferentes disciplinas biómicas (genómica, proteómica y metabolómica, entre otras), reforzados además por la bioinformática, ofrecen hoy por hoy una oportunidad para el descubrimiento de perfiles moleculares y marcadores de utilidad en el diagnóstico de la sepsis neonatal precoz.

Cabe destacar que de todas ellas la proteómica es, quizás, la metodología que ha despertado mayores expectativas en el campo de las enfermedades infecciosas. Esto es debido a que su objeto de estudio es el análisis sistemático y a gran escala del proteoma (conjunto de todas las proteínas expresadas por el genoma de una célula, tejido y organismo), en un momento dado, y en

determinadas condiciones de tiempo y ambiente. Para la consolidación de esta ciencia, relativamente reciente, ha sido necesario el desarrollo definitivo de la espectrometría de masas como técnica aplicada al análisis de moléculas biológicas, combinado con el empleo de métodos de fraccionamiento y separación de péptidos y proteínas, como la Electroforesis de Poliacrilamida de dos dimensiones y la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Cabe señalar, que las micromatrices (microarrays o biochips) de proteínas permiten el análisis e identificación simultánea de grandes paneles de sondas para regiones genómicas específicas de los diferentes biomarcadores. Dada la versatilidad y diversidad de los sistemas de micromatrices, se puede además evaluar los genes de resistencia a antibióticos y los marcadores de virulencia.

Algunos estudios (85;86), evaluaron la detección de DNA bacteriano (la región 16S rRNA) mediante amplificación por *pcr* seguido de hibridación por microarray del DNA en muestras de sangre de 172 neonatos con clínica de sospecha de sepsis. En ambos, este microarray fue muy específico en algunas de la muestras con hemocultivo positivo en la detección de ciertos microorganismos y en la evaluación de los genes resistentes a antibióticos relacionados.

La baja sensibilidad de los microarrays conseguida puede ser debida a la baja cantidad de DNA del patógeno en las muestras de los pacientes, que es mejorada por la amplificación mediante *pcr* antes de la hibridación de microarrays.

En un estudio más reciente, *Tissari y cols.* evaluaron una plataforma de microarrays para la identificación de hemocultivos positivos, donde se amplificaban los genes *gyrB*, *parE* y *mecA* de 50 especies bacterianas (87), siendo este ensayo 18 horas más rápido que los métodos convencionales con una sensibilidad y especificidad del 94,7 y 98,8%, respectivamente.

Por tanto, hay que prestar especial atención al avance de estas nuevas técnicas y a la validación de esta nueva generación de marcadores proteómicos como futuros campos de investigación en el diagnóstico de la sepsis neonatal.

II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

2.1. Justificación e importancia del estudio

La sepsis neonatal es una enfermedad con múltiples manifestaciones clínicas no específicas durante los primeros días de vida, que con frecuencia se asocia a una presentación clínica de uno o más factores de riesgo perinatales.

Durante el embarazo, el feto está protegido de las infecciones bacterianas por las membranas corioamnióticas y la placenta. Sin embargo, existen múltiples factores que traspasan de una u otra forma las “barreras protectoras del neonato”, aumentando el riesgo de infección ya que su sistema inmunológico es inmaduro.

La sepsis neonatal se apoya en cuatro pilares básicos: la anamnesis (para investigar factores de riesgo infeccioso), evaluación clínica, pruebas complementarias y los datos bacteriológicos. Entre ellos, la exploración clínica sigue siendo el dato más útil para establecer la sospecha de infección neonatal.

El aislamiento de cualquier microorganismo para el diagnóstico de sepsis neonatal precoz confirma definitivamente la infección, pero la mayoría de las veces no es posible esperar el crecimiento del germen para iniciar el tratamiento antibiótico, ya que podría ensombrece el pronóstico de esta enfermedad potencialmente mortal.

Por ello, se han estudiado un gran número de pruebas de laboratorio con el objetivo de identificar precozmente al recién nacido infectado. A pesar de todos estos estudios, no existe en la actualidad una sola prueba de laboratorio que, de forma aislada, haya demostrado una adecuada sensibilidad y especificidad para identificar la infección.

Además, existe el problema de conocer cuál es el criterio adecuado para iniciar el tratamiento antibiótico a un recién nacido asintomático cuya madre tiene uno o varios factores de riesgo infeccioso (corioamnionitis, bolsa rota mayor de 18 horas o fiebre intraparto).

El presente trabajo pretende estudiar biomarcadores de sepsis que ayuden, tanto en positivo como en negativo, a establecer el diagnóstico de sospecha de sepsis neonatal, y correlacionarlos con los antecedentes perinatales de la madre; teniendo en cuenta el examen físico de los neonatos a su nacimiento habiendo ingresado en el Servicio de Neonatología del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.

2.2. Hipótesis

¿Pueden resultar de utilidad la determinación de los principales biomarcadores de sepsis en sangre de cordón para la evaluación en el diagnóstico de la sepsis neonatal precoz?

¿Es la sepsis neonatal precoz consecuencia de un conjunto de factores de riesgo asociados al neonato por sus características propias, o son los factores de riesgo maternos los que más influyen en el desarrollo de sepsis?

¿Existe actualmente algún biomarcador que pueda predecir de forma rápida y fiable una posible sepsis neonatal precoz para la instauración de un tratamiento antibiótico adecuado?

Partiendo de estos interrogantes, se sugiere una investigación que estudie la determinación de los principales biomarcadores de sepsis en sangre de cordón en diferentes grupos de estudio de recién nacidos con factores de riesgo en nuestro hospital, que relacione por traslación quizás el diagnóstico de la sepsis neonatal precoz con la suma de los resultados obtenidos de las determinaciones de estos parámetros en sangre de cordón, así como el estudio de técnicas de biología molecular en este tipo de muestras.

Nuestra hipótesis principal se basa en que los biomarcadores de sepsis determinados en sangre de cordón umbilical pueden predecir el diagnóstico de sepsis neonatal precoz. Y que, además, los niveles de éstos pueden diferir entre distintos grupos de estudio, planteándonos que estos cambios podrían ser causa de diversos factores de riesgo infeccioso.

Para poder trabajar estas cuestiones, habría que profundizar en varios aspectos relacionando los factores de riesgo infeccioso asociados, con las determinaciones en las muestras de sangre de cordón; así como introducir las posibles claves para ayudar a un diagnóstico en positivo como en negativo del diagnóstico de la sepsis neonatal precoz. El estudio comparativo de cinco grupos de estudio de recién nacidos con diferentes factores de riesgo infeccioso puede ayudar a concretar todos estos aspectos, y a definir y anticipar un correcto diagnóstico, y su consecuente tratamiento antibiótico.

2.3. Objetivos

Con esta premisa y los anteriores planteamientos, se ha definido un objetivo principal y tres objetivos accesorios en el presente trabajo, que se exponen a continuación:

- Objetivo principal:

Estudiar la utilidad clínica de los biomarcadores de sepsis en sangre de cordón, tanto bioquímicos (PCT, PCR y IL-6) como hematológicos, en el diagnóstico o exclusión de sepsis neonatal precoz.

- Objetivos secundarios:

1. Relacionar los biomarcadores de sepsis en sangre de cordón con los niveles de estos biomarcadores en sangre del recién nacido.
2. Relacionar los factores de riesgo infeccioso predisponentes en el momento del parto con los biomarcadores de sepsis, tanto en sangre neonatal como en sangre de cordón.
3. Evaluar la utilidad de la detección del DNA bacteriano en sangre de cordón mediante la reacción en cadena de la polimerasa con el uso de primers con regiones bacterianas 16S rRNA, para una rápida identificación del microorganismo que causa la infección, y conseguir una cobertura antibiótica precoz, y la comparación de resultados con el hemocultivo, para una rápida detección de sepsis bacteriana.

III. SUJETOS Y MÉTODO

III. SUJETOS Y MÉTODO

3.1. Diseño del estudio

Para la realización de este trabajo de investigación, se han seguido las distintas etapas de la metodología científica.

En una primera etapa, tras varias reuniones con los directores del trabajo y expertos en el tema, se marcó un objetivo inicial y se realizó una revisión bibliográfica sobre la sepsis neonatal precoz, con la finalidad de elaborar un marco teórico que sirviera de guía para el diseño, eligiendo una metodología cuantitativa.

A partir de ahí, se definió el objeto de la investigación, así como las características de los individuos que compondrían el estudio, y los recursos materiales y humanos necesarios para llevarla a cabo.

En una segunda etapa, se plantearon los objetivos específicos y se diseñó un estudio cuyos fundamentos metodológicos estaban basados en:

- establecer grupos de estudio y las características de cada uno de ellos.
- recoger datos y muestras clínicas en cada uno de los individuos incluidos.
- medir las diferentes variables bioquímicas potencialmente relacionadas con los objetivos fijados.

Por lo tanto, se ha realizado un estudio prospectivo observacional transversal en un período de 12 meses, comprendido entre los meses de Mayo de 2010 y Abril de 2011 en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (Murcia) en el Servicio de Análisis Clínicos, con la colaboración de la Sección de Neonatología de dicho hospital, donde se comparan las características de un grupo de recién nacidos en nuestro hospital que fueron ingresados en la Sección de Neonatología por diferentes causas (entre ellas sospecha de infección, prematuridad, sepsis neonatal precoz, y otras causas) con otro grupo que no ingresó en esta sección.

- Estrategia de búsqueda bibliográfica:

La revisión bibliográfica se realizó en bases de datos nacionales e internacionales, tales como *Pubmed*.

Como estrategia para la búsqueda, se utilizaron descriptores cotejados con la base de datos de Descriptores en Ciencias de la Salud y del *Medical Subjects headings*, que fueron los siguientes: sepsis neonatal precoz, sangre de cordón, factores de riesgo infeccioso, prematuridad, marcadores hematológicos, marcadores bioquímicos de sepsis, estudio microbiológico en el neonato, técnicas de biología molecular, etc.

La búsqueda fue limitada a artículos de la tipología estudios de casos y controles, estudios de cohortes, tanto prospectivos como retrospectivos, estudios descriptivos transversales y revisiones de metaanálisis, todos ellos publicados en los últimos 10-15 años.

- Estrategia en análisis de resultados:

El análisis de resultados se realizó en dos fases diferentes.

En una primera se realizó un estudio transversal descriptivo, comparativo, de las variables del estudio y su distribución en función de los cinco grupos participantes en el mismo.

En una segunda fase del análisis de resultados, se estableció una estrategia con finalidad analítica, con el objetivo de determinar, con técnicas estadísticas multivariantes adecuadas, qué factores de riesgo se asocian con uno u otro grupo de la muestra, identificando la magnitud de asociación y las diferencias que existen entre los grupos, en función de los valores que presentan las variables.

3.2. Sujetos

3.2.1. Criterios de inclusión

A continuación, se definen las características principales de la población de estudio, los criterios de inclusión de los pacientes, la recogida de datos clínicos, los parámetros de estudio, así como los diferentes grupos de estudio.

Se seleccionaron los pacientes en función de los siguientes tres criterios de inclusión:

- Edad de vida del neonato: desde el momento del nacimiento hasta los cuatro días de vida, de acuerdo a la definición de sepsis neonatal precoz anteriormente comentada.
- Ingreso hospitalario de dicho neonato en las Unidades de Maternidad y/o Neonatología.
- Neonatos a los que se le realizó una analítica de hemograma y reactantes de fase aguda (PCR), solicitada según el protocolo de evaluación de sospecha infecciosa y/o existencia de factores perinatales desfavorables que así lo aconsejaban.

Un neonato con alto riesgo infeccioso ingresa en la Sección de Neonatología según los siguientes criterios de los responsables médicos de nuestro hospital:

- Prematuridad menor o igual a las 35 semanas de gestación.
- Bajo peso al nacimiento (< 2.200 gramos).
- Recién nacido de cualquier peso y edad gestacional con distrés respiratorio.
- Aumento de reactantes de fase aguda en controles analíticos según protocolo de seguimiento del recién nacido con factores de riesgo infeccioso, con o sin sintomatología clínica.
- Cuadro de empeoramiento del estado general, como alteraciones cardíacas, hiperbilirrubinemia, hipoglucemia, etc.
- Problemática social.

Además, los neonatos son ingresados en la Unidad de Maternidad de nuestro hospital, donde se solicita una analítica de urgencia de hemograma y PCR, por los siguientes motivos:

- Prematuridad superior a 35 semanas de gestación, si su estabilidad termorreguladora y nutricional lo permite.
- Rotura de membranas materna superior a 18 horas.
- Fiebre intraparto materna.
- Resultado de test de SGB materno positivo, según los criterios establecidos por la *CDC*, ya comentados previamente en la introducción.
- Otras causas como: hipoglucemia, ictericia neonatal, leve distrés respiratorio, cualquier cambio en el comportamiento del neonato, etc.

3.2.2. Criterios de exclusión

Los neonatos que se excluyeron del estudio fueron los siguientes:

- Aquellos que no nacieron en nuestro hospital o que fueron trasladados desde cualquier otro a los pocos días de vida, ya que no se disponía de sangre de cordón, datos clínicos maternos y/o neonatales.
- Cualquier neonato del que por diferentes causas no se pudo obtener alguna muestra de sangre de cordón, independientemente del hospital de nacimiento.

3.2.3. Grupos de estudio

Los sujetos de estudio se clasificaron en cinco grupos:

- Grupo 1: Neonatos con estudio en Maternidad: Recién nacidos a término que ingresaron en la Unidad de Maternidad procedentes del paritorio o del quirófano de esta unidad para el seguimiento del recién nacido aparentemente normal pero con factores de riesgo, a los que se solicitó una analítica de urgencia con hemograma y Proteína C reactiva, y fueron dados de alta sin precisar ingreso hospitalario. Este grupo se formó a partir de una aleatorización del total de la población, excluyendo al resto de grupos, ya que inicialmente estaba constituido por un elevado número de componentes.

- Grupo 2: Neonatos con ingreso en Neonatología por sospecha de infección: Recién nacidos a término que ingresaron en la Unidad de Neonatología desde la Unidad de Maternidad del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, a los que se les solicitó una primera analítica de urgencia con hemograma y Proteína C reactiva en los tres primeros días de vida, y cuyos resultados analíticos eran sugestivos de sospecha de infección. Por lo tanto, se procedió a su observación e ingreso en la Unidad de Neonatología de dicho hospital debido a esta analítica de urgencia, antecedentes maternos de riesgo de infección o condiciones perinatales u obstétricas desfavorables.
- Grupo 3: Neonatos con ingreso en Neonatología por otros motivos: Recién nacidos a término que ingresaron en la Unidad de Neonatología por diferentes motivos, excepto por sospecha de infección, a los que se procedió a su estudio y observación en esta unidad.
- Grupo 4: Neonatos prematuros: Recién nacidos prematuros con edad de gestación inferior a 37 semanas, que ingresaron en la Sección de Neonatología o en la Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatología para someterlos a una observación continua y tratamiento.
- Grupo 5: Neonatos con sepsis neonatal precoz: Neonatos que desarrollaron sepsis neonatal precoz, con confirmación bacteriológica y/o sospecha clínica de infección, con el consecuente ingreso en la Sección de Neonatología o en la Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatología, donde recibieron el tratamiento antibiótico adecuado.

3.3. Método

3.3.1. Recogida de muestras

- Sangre neonatal:

Con base a los criterios de inclusión/exclusión ya descritos en los apartados anteriores, se seleccionaron las muestras mediante reglas de búsqueda en el programa informático OMEGA 3.3 (*Roche Diagnostics®*).

Las muestras de bioquímica se recogieron en el Laboratorio de Urgencias del Servicio de Análisis Clínicos de nuestro hospital procedentes de los Servicios de Neonatología para cursar analíticas de urgencias instauradas por protocolo en casos de sospecha de infección. Estos sueros se alicuotaron y congelaron a -80°C para su posterior procesamiento.

Las muestras de sangre total necesarias para realizar el hemograma del neonato se recogieron en el mismo laboratorio, donde se procesaron inmediatamente. Se descartaron aquellos hemogramas coagulados o con muestra insuficiente.

- Sangre de cordón:

Las sangres de cordón de los neonatos de los diferentes grupos de estudio se recogieron en el Laboratorio de Banco de sangre del Servicio de Hematología de nuestro hospital, donde rutinariamente se determinan los grupos sanguíneos en estas muestras a todos los recién nacidos. La sangre de cordón se obtuvo por venopunción de la vena umbilical en el momento posterior al parto.

Se descartaron las muestras coaguladas o que habían sido previamente diluidas para la realización de la determinación del grupo sanguíneo.

Además, como ya hemos comentado en los criterios de exclusión, no se incluyeron en el estudio aquellos neonatos de los que no se pudo disponer de las muestras de sangre de cordón, por nacimiento extrahospitalario o ingreso posterior en el hospital procedente de otro hospital.

3.3.2. Parámetros de estudio

Los parámetros de estudio se estudiaron en dos tipos de muestra, tanto en sangre del neonato como en sangre de cordón, y dependiendo del tipo de muestra, fueron:

- Sangre del neonato:
 - Parámetros hematológicos: Recuento de leucocitos totales, neutrófilos totales y granulocitos inmaduros, y cociente de granulocitos inmaduros/neutrófilos totales.
 - Parámetros bioquímicos: Proteína C Reactiva, Procalcitonina e Interleuquina-6.
 - Parámetros microbiológicos: Hemocultivo realizado en el Servicio de Microbiología de nuestro hospital.
- Sangre de cordón:
 - Parámetros hematológicos: Recuento de leucocitos totales, neutrófilos totales y granulocitos inmaduros, y cociente de granulocitos inmaduros/neutrófilos totales.
 - Parámetros bioquímicos: Proteína C Reactiva, Procalcitonina e Interleuquina-6.
 - Cociente entre los marcadores bioquímicos en sangre del neonato y en sangre de cordón.
 - Técnicas de biología molecular: detección del gen ribosomal 16S bacteriano (16S rDNA).

3.3.3. Protocolo de recogida de datos clínicos

La recogida de datos clínicos se realizó durante el año de recogida de muestras desde Mayo de 2010 a Abril de 2011, consultando las historias clínicas de todos los recién nacidos, así como las de sus respectivas madres en la Unidad de Codificación de nuestro hospital, clasificándose en tres categorías:

- Datos del neonato:
 - Sexo: hombre/mujer.
 - Edad gestacional: según FUR (fecha de la última regla) y parámetros ecográficos, expresado en semanas y días.
 - Peso al nacimiento.
 - Test de APGAR al minuto 1 y 5 de vida.
 - Presencia de distrés respiratorio al nacimiento, según el diagnóstico clínico del Servicio de Pediatría de nuestro hospital.
 - Administración de tratamiento antibiótico por sospecha de riesgo infeccioso.
 - Diagnóstico principal del neonato al alta de la hospitalización.

- Datos maternos:
 - Edad.
 - Temperatura periparto, objetivada por el equipo de matronas de nuestro hospital.
 - Resultado del cultivo microbiológico de exudado vaginal (o vagino-rectal) para la detección de *Streptococcus agalactiae* realizado durante las semanas 35 a 37 del embarazo, en los principales centros sanitarios de la Región de Murcia (Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Hospital Universitario Morales Meseguer y Hospital Universitario Reina Sofía).

- Datos obstétricos:
 - Fecha/hora del parto.
 - Tipo de anestesia utilizada en el parto: epidural, raquídea, local o sin anestesia.
 - Tiempo de rotura de bolsa de membranas: en función de las horas transcurridas desde la rotura de la bolsa (menor a 12 horas, de 12 a 24 horas, o superior a 24 horas).

3.3.4. Procesamiento de las muestras

3.3.4.1. Análisis hematológico

- Sangre neonatal:

El análisis hematológico de la sangre del neonato se realizó en tubos de hemograma conteniendo como anticoagulante el ácido trietilenodiaminotretacético (EDTA) tripotásico, en un autoanalyzer hematológico SYSMEX XE-5000 (*Roche Diagnostics®*) con previa agitación, donde se obtuvieron datos de recuento y fórmula leucocitaria.

- Sangre de cordón:

Con la sangre de cordón se siguió el mismo procedimiento que en la sangre total de los recién nacidos, respecto a la extracción en tubos de hemograma con anticoagulante EDTA tripotásico, y análisis en el analizador hematológico SYSMEX XE-5000 (*Roche Diagnostics®*).

Posteriormente, estas muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos, se separó la sangre total y el plasma, se alicuotaron por separado en tubos preparados para la conservación en frío, y se congelaron a -80°C para su posterior procesamiento.

3.3.4.2. Análisis bioquímico

El análisis bioquímico de la sangre del neonato se realizó en plasma, en tubos con Heparina de Litio como anticoagulante, con previa centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm.

Los biomarcadores de sepsis se determinaron en el analizador COBAS 6000 (*Roche Diagnostics®*), mediante inmunturbidimetría (en el caso de la PCR) y mediante un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (en el caso de la PCT y la IL-6). En las técnicas empleadas también se incluyeron controles internos con concentraciones conocidas.

Las características de los ensayos y los valores de referencia para la población adulta se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Características analíticas de los marcadores bioquímicos de sepsis.

	PCR	PCT	IL-6
Estabilidad: T^a ≤ 20°C	2 meses	3 meses	3 meses
Ciclos deshielo (n)	1	1	1
Muestras válidas	Suero Plasma (Heparina, EDTA)	Suero Plasma (Heparina, EDTA)	Suero Plasma (Heparina, EDTA)
Sensibilidad funcional	≤ 0,1 mg/dL	≤ 0,06 ng/mL	≤ 1,5 pg/mL
Rango de medida	0,1-25 mg/dL	0,02-100 ng/mL	1,5-5000 pg/mL
CV interensayo (%)	≤ 2,5	≤ 8,7	≤ 5,3

3.3.4.3. Análisis microbiológico

A todos aquellos pacientes ingresados en la Unidad de Neonatología con sospecha de riesgo infeccioso, se les extrajo un mínimo de 1 mL de sangre total mediante procedimientos estériles para el cultivo microbiológico convencional en frascos *BacT-Alert* (BioMérieux®), antes de comenzar con el tratamiento antibiótico generalizado (en los casos que procedía).

Sólo se sembró un frasco de cultivo de sangre para cada paciente, el cual se incubó inmediatamente, y se procedió a su posterior estudio por el Servicio de Microbiología.

En caso de la positividad del hemocultivo, se aisló el microorganismo para su identificación mediante tests bioquímicos manuales de identificación bioquímica. Posteriormente se utilizó un sistema de identificación automatizado (*Vitek II*, BioMérieux®), que identifica el microorganismo a través de pruebas bioquímicas; y realiza antibiogramas mediante tarjetas que contienen concentraciones crecientes de los principales antibióticos, informando de la sensibilidad y resistencia a los mismos.

En caso de la negatividad del hemocultivo, se informó como tal, no realizándose identificación del microorganismo ni el antibiograma correspondiente.

3.3.4.4. Procesamiento de la sangre de cordón

A estas muestras se les realizó un hemograma en el analizador SYSMEX XE-5000 (*Roche Diagnostics®*) para obtener datos hematológicos de la sangre de cordón.

Posteriormente, se centrifugaron para obtener dos alícuotas que se congelaron a -80° C para su procesamiento al final del estudio; una de sangre total, para la determinación de la presencia de microorganismos patógenos mediante técnicas de biología molecular, y el sobrenadante o plasma, para la determinación de los biomarcadores de sepsis (IL-6, PCT y PCR).

Los biomarcadores de sepsis (PCR, PCT e IL-6) se analizaron de la misma forma que en el caso de los plasmas obtenidos de la sangre del neonato, en el analizador COBAS 6000 (*Roche Diagnostics®*), sin ningún tipo de tratamiento preanalítico previo de extracción o derivatización.

3.3.4.5. Técnicas de biología molecular

Las muestras de sangre de cordón, previamente descongeladas, se sometieron en primer lugar a un proceso de extracción del ADN bacteriano, en segundo lugar, a una amplificación y detección del microorganismo de la reacción en cadena de la polimerasa o *pcr* a tiempo real mediante el *LigthCycler® SeptiFast Test* (*Roche Diagnostics®*) y, por último, se procedió a la identificación automática de cepas y controles.

- Extracción de Ácidos nucleicos para *SeptiFast Test en MagNA Pure COMPACT* (*Roche Diagnostics®*):

Para ello, se han utilizado los equipos:

- *MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit.*
- *SeptiFast Lys Kit MGRADE.*
- *MPLC Total NA Isol. Kit-Lysis/Binding Buffer Refill.*

La extracción mediante el *LigthCycler SeptiFast test M^{GRADE}* está basada en la lisis mecánica de 1 mL de sangre total mediante el kit de lisis *SeptiFast Lysis* y el instrumento *Magna Lyser* (*Roche Diagnostics®*).

En primer lugar, se realiza una lisis mecánica en dicho instrumento, previa a una incubación de las muestras lisadas a una proteasa y un tampón de lisis caotrópico que liberan ácido nucleico y protegen el ADN liberado de las Dnasas presentes en la sangre de cordón.

A continuación se introduce en cada muestra un volumen definido de control interno (CI) más el reactivo de lisis. El CI consta de moléculas sintéticas de ADN de doble cadena con sitios de unión de primers idénticos a los de las secuencias objetivo. El CI tiene contiene regiones de unión de sondas únicas que permiten diferenciar el CI amplificado del amplicón específico para el objetivo.

Después de añadir el tampón de unión, se transfiere la mezcla a una columna de centrifugación mediante un filtro de fibra de vidrio. El ADN objetivo bacteriano/fúngico se hibrida con la superficie de la fibra de vidrio. Las sustancias no unidas, tales como sales, proteínas y otros fragmentos celulares, se eliminan mediante un lavado en dos fases. Una vez completado el lavado, se eluyen los ácidos nucleicos absorbidos y una temperatura elevada.

El material eluído se someterá en el próximo paso al análisis de amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (*pcr*).

- Amplificación y detección de la *pcr* a tiempo real mediante el *LightCycler® Septifast Test*:

1. Selección del objetivo: Se selecciona la región ITS (espaciador transcrito interno) como región objetivo para la diferenciación de las cepas bacterianas y fúngicas. Esta zona ofrece una mayor sensibilidad analítica que los genes de copia única porque existen varios operones en los genomas de bacterias y fungi. Además, la región ITS contiene más cepas específicas que el ARN ribosómico, por lo que resulta más adecuado para la diferenciación de las cepas. Se halla situada entre las secuencias de ADN ribosómico 16S y 23S de todas las bacterias Gram positivo y Gram negativo, y entre las secuencias de ADN ribosómico 18S y 5,8S de todos los fungi.

2. *Amplificación*: Antes de realizar la amplificación *pcr* debe reducirse el riesgo de contaminación del amplicón mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilada). Esta enzima reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina, pero no del ADN que contiene desoxitimidina.

Las muestras procesadas se añaden a la mezcla para amplificación que contiene polimerasa Taq de inicio en caliente en los capilares del *LightCycler* (100 μ L) *M^{GRADE}* en los que tendrá lugar la amplificación mediante *pcr*. Cada objetivo de la cepa especificada se amplifica mediante primers genéricos o específicos. Simultáneamente se amplifica una mezcla de objetivos en los controles de reactivos (RC).

3. *Detección en tiempo real de productos pcr mediante sondas HybProbe*: El amplicón se detecta mediante fluorescencia utilizando un par específico de sondas *HybProbe*. Dichas sondas marcadas mediante fluorescencia se hibridan en una secuencia interna del fragmento amplificado durante la fase de annealing del ciclo de amplificación. El equipo *LightCycler® 2.0* se encarga de medir la emisión de fluorescencia en uno de los cuatro canales de detección existentes.

Una vez finalizada la amplificación se genera un análisis de la curva de fusión. La temperatura de fusión (o Temperatura melting: T_m) depende de la longitud, la secuencia y el grado de homología entre la sonda y el ADN objetivo. Las sondas están diseñadas para diferenciar las cepas por su T_m propia detectada en cada canal.

4. *Identificación automática de cepas y controles*: Las temperaturas de fusión (T_m) de las muestras y los controles se analizan mediante un software de identificación especial (software de identificación *SetpiFast Identification Software*), y se genera un informe.

Si se obtiene un resultado positivo de *Staphylococcus aureus*, cabe considerar la posibilidad de realizar una prueba de resistencia mecA posteriormente.

- Identificación automática de cepas y controles:

Las temperaturas de fusión (T_m) de las muestras y los controles se analizaron mediante un software de identificación especial (software de identificación *SeptiFast Identification Software*), generándose un informe final.

Las concentraciones bajas de *Staphylococo coagulasa negativo* (SCN) y *Streptococci*, que reflejan el rango de contaminaciones del flujo de trabajo no se muestran como resultados.

En la siguiente figura (Figura 6) se muestran las especies de microorganismos que detecta el *Septifast*, en función de los canales de longitud de onda a los que se pueden detectar y sus temperaturas de fusión.

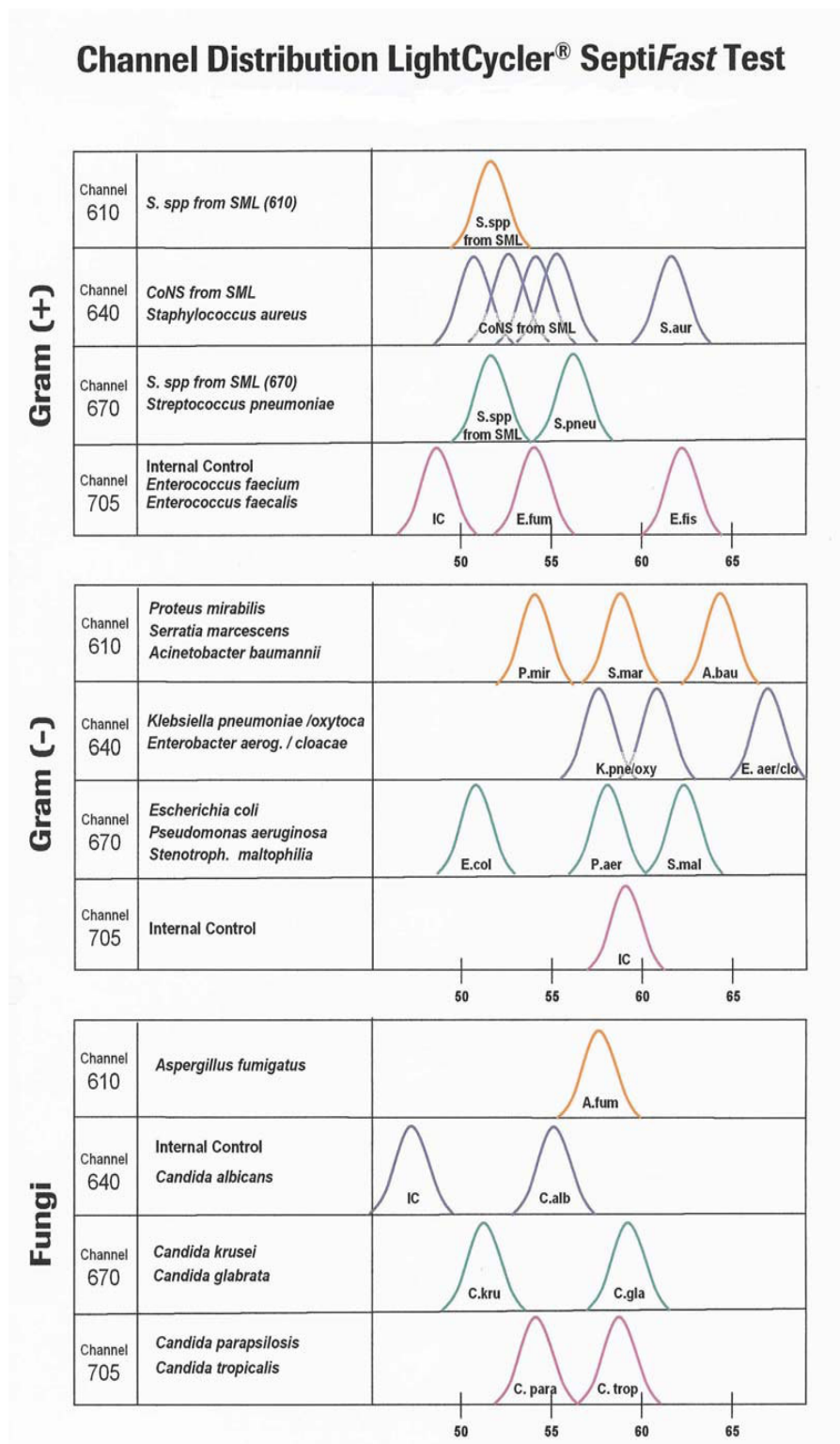


Figura 6. Distribución de los canales de detección de los microorganismos del *Septifast*, en función de la longitud de onda y sus temperaturas de fusión o T_m .

3.3.5. Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico de los resultados, fue necesario procesarlos en una base de datos de Microsoft Excel y, posteriormente, exportarlos al programa estadístico *SPSS* para *Windows*, versión 15.0 (Chicago, Illinois, USA).

La distribución normal de las variables se comprobó mediante la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*. Puesto que ninguna de ellas seguía esta distribución, se aplicaron tests no paramétricos en todos los casos, excepto en los parámetros hematológicos de leucocitos y neutrófilos en sangre del neonato.

Se analizaron las distintas variables de estudio mediante el cálculo de estadísticos descriptivos básicos. Respecto a las variables cualitativas, tanto las categóricas como las ordinales, fueron descritas sus frecuencias absolutas y porcentajes de cada una de las categorías. Las variables cuantitativas continuas, fueron descritas con el valor de media, mediana, desviación estándar, error típico de la media, rango intercuartílico, máximo y mínimo, y frecuencias, con un intervalo de confianza del 95% cuando se trataba de un parámetro cuantitativo. Además se realizó una tabla descriptiva de las principales características del grupo de sepsis neonatal precoz (Grupo 5).

En el estudio analítico, se realizó un estudio entre las variables cuantitativas y cualitativas, donde se aplicó el test no paramétrico *U de Mann-Whitney* y la prueba de Chi-cuadrado entre los diferentes grupos de estudio para el caso de parámetros que no seguían una distribución normal, y la prueba *t de Student* para los dos parámetros hematológicos que sí la seguían.

Además, mediante correlaciones bivariadas de *Spearman* se estudiaron las relaciones entre variables cuantitativas que no seguían una distribución normal, y para las dos variables que sí seguían una distribución normal se emplearon las correlaciones de *Pearson*.

Se realizó un análisis univariante de la influencia de los principales factores de riesgo infeccioso por separado sobre los biomarcadores de sepsis en sangre de cordón para cada grupo de estudio mediante la prueba de *Kruskal-Wallis*

para aquellas variables con más de un parámetro semicuantitativo, y mediante la prueba de *U de Mann-Whitney* cuando únicamente existían dos parámetros.

Además, se elaboraron curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para la obtención de posibles puntos de corte de los marcadores bioquímicos de sepsis, valores de sensibilidad y especificidad, valor predictivo positivo y negativo, así como los *likelihood ratios* positivo y negativo. Para ello, se empleó el programa informático *MedCalc* (*Medical Calculator*).

Con el fin de explorar los factores de riesgo infeccioso de los recién nacidos estudiados, no enfermos, a través de los valores de las tablas utilizadas, y la influencia que existe entre los marcadores bioquímicos o variables independientes, se ha realizado un análisis de regresión lineal múltiple, introduciendo en el modelo inicial como variables independientes todas las aquellas medidas en escala continua, mediante el modelo de pasos sucesivos.

De igual modo, con la finalidad de conocer la probabilidad o riesgo de presentar un valor analítico considerado de riesgo, una vez categorizadas las variables cuantitativas interesadas, se ha realizado un análisis de regresión logística, partiendo de un modelo donde eran introducidas como variables independientes todas las variables categóricas del estudio; las variables cuantitativas fueron recodificadas previamente en variables categóricas. Como medida de asociación, para la interpretación de los resultados y la valoración de la magnitud de asociación, se toma como referencia la *Odds Ratio* ajustada, con su intervalo de confianza del 95%.

En todos los contrastes de hipótesis realizados con técnicas estadísticas, se ha aceptado la existencia de significación estadística para una confianza superior al 95%, admitiendo un valor aleatorio inferior al 5% ($p < 0,05$).

3.3.6. Confidencialidad del estudio

La inclusión en este estudio no ha supuesto riesgo alguno para los pacientes, ya que la obtención de las muestras procedía de las extracciones de sangre establecidas por protocolo en la evaluación y seguimiento de sospecha de sepsis u otros factores de riesgo perinatales desfavorables de determinados recién nacidos. Y en el caso de las sangres de cordón se emplearon aquellas muestras que se analizan en la Sección de Banco de sangre en el Servicio de Hematología para la determinación del grupo sanguíneo del neonato.

Sólo han tenido acceso a los datos clínicos, los facultativos del Servicio de Análisis Clínicos y Neonatología que han participado en este ensayo, asegurando la confidencialidad de los mismos, estableciendo el protocolo pertinente para ello.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

4.1. Estudio descriptivo

4.1.1. Características generales de la población de estudio:

Se ha realizado un estudio prospectivo en una población de estudio formada por 561 neonatos (310 varones, 251 mujeres), nacidos en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (Murcia) entre los meses de Mayo de 2010 y Abril de 2011, siendo sus características generales las que se especifican a continuación.

Tabla 4: Características de la población de estudio: a) características maternas; b) características de los neonatos.

a. Características maternas		Número de casos
Edad materna: 16-46 años (Media $\pm$ SD: 31,2 $\pm$ 5,6 años)		
Resultado Test SGB	SGB negativo	306
	SGB positivo	114
	Test no realizado	44
	No constan datos clínicos	97
Horas de rotura de membranas previas al parto	<12h	380
	12-24h	60
	>24h	60
	No constan datos clínicos	61
Temperatura materna intraparto	T ^a $\leq$ 37,5°C	471
	T ^a > 37,5°C	47
	No constan datos clínicos	43
Tipo de anestesia utilizada	Epidural	345
	Raquídea/general	110
	Local	36
	Sin anestesia	34
	No constan datos clínicos	36

b. Características neonatales (N= 561)	Media $\pm$ SD	Mínimo-Máximo
Edad de gestación (semanas)	37,5 $\pm$ 2,9	28-42,1
Peso al nacimiento (gramos)	2892,1 $\pm$ 732,9	1130-5000
Test de APGAR 1 (puntuación)	8,81 $\pm$ 0,77	3-10
Test de APGAR 5 (puntuación)	9,85 $\pm$ 0,53	3-10

Los parámetros hematológicos y marcadores bioquímicos de sepsis tanto en sangre de cordón, como en sangre del neonato se describen en las siguientes tablas.

Tabla 5: Parámetros hematológicos y marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en la población total de estudio.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	561	561	561	561
<i>Media</i>	14,01	8,07	0,32	0,0367
<i>Desviación típica</i>	6,97	4,26	0,41	0,0328
<i>E.T. de la media</i>	0,34	0,21	0,02	0,0016
<i>Mediana</i>	12,94	7,56	0,19	0,0252
<i>Percentil 25</i>	9,46	5,18	0,09	0,0155
<i>Percentil 75</i>	17,03	10,39	0,39	0,0462
<i>Mínimo</i>	1,69	1,1	0	0
<i>Máximo</i>	46,4	23,7	4,2	0,2452

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	561	561	561
<i>Media</i>	0,05	0,245	152,43
<i>Desviación típica</i>	0,22	1,898	714,37
<i>E.T. de la media</i>	0,01	0,081	30,63
<i>Mediana</i>	0,02	0,087	4,94
<i>Percentil 25</i>	0	0,065	2,25
<i>Percentil 75</i>	0,03	0,114	14,42
<i>Mínimo</i>	0	0,01	1,5
<i>Máximo</i>	3,29	38,52	5.000

Tabla 6: Parámetros hematológicos y marcadores bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en la población total de estudio.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	561	561	561	561
<i>Media</i>	15,37	9,11	0,33	0,0344
<i>Desviación típica</i>	6,18	4,57	0,49	0,0418
<i>E.T. de la media</i>	0,27	0,2	0,02	0,0018
<i>Mediana</i>	14,91	8,71	0,18	0,0204
<i>Percentil 25</i>	11,07	5,71	0,08	0,0113
<i>Percentil 75</i>	18,83	11,83	0,38	0,0409
<i>Mínimo</i>	2,31	0,55	0	0
<i>Máximo</i>	67,62	36,61	4,6	0,3272

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	561	561	561
<i>Media</i>	0,7	4,178	150,39
<i>Desviación típica</i>	1,6	11,491	602,09
<i>E.T. de la media</i>	0,1	0,522	27,34
<i>Mediana</i>	0	0,728	21,49
<i>Percentil 25</i>	0	0,264	10,79
<i>Percentil 75</i>	0,4	2,69	73,18
<i>Mínimo</i>	0	0,011	1,5
<i>Máximo</i>	10,9	100	5.000

En cuanto al estudio microbiológico realizado, las principales características de los microorganismos aislados mediante técnicas convencionales (hemocultivo) como por técnicas de biología molecular en sangre de cordón se pueden observar en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados del estudio microbiológico (hemocultivo) en sangre neonatal, y de las técnicas de biología molecular (Septifast) realizadas en sangre de cordón.

HEMOCULTIVO	Nº casos	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	190	33,9	88,0
SCN	13	2,4	6,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,2	0,5
<i>Streptococcus spp.</i>	2	0,4	0,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,2	0,5
<i>Escherichia coli</i>	3	0,5	1,4
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	0,7	1,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0,4	0,9
Total	216	38,5	100

SCN: *Staphylococo coagulasa negativo*.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	150	26,7	76,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	1,1	3,1
SCN	3	0,5	1,5
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	0,5	1,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0,2	0,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	0,5	1,5
<i>Escherichia coli</i>	3	0,5	1,5
<i>E.coli/Pseud.aer/Sten.malt</i>	3	0,5	1,5
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	7	1,2	3,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	0,9	2,6
<i>Candida albicans</i>	1	0,2	0,5
Probable Gram+	10	1,8	5,1
Probable Gram-	1	0,2	0,5
Total	196	34,9	100

SCN: *Staphylococo coagulasa negativo*.

Por último, se realizó la prueba de normalidad de variables, para aplicar un adecuado análisis estadístico a la población de estudio.

Para ello, se aplicó la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*, siendo únicamente dos las variables que seguían una distribución normal: Leucocitos y Neutrófilos en sangre del neonato, como se muestra en las tablas 8 y 9.

Además, se realizó una conversión logarítmica de las variables que no seguían una distribución normal a logaritmo decimal y logaritmo neperiano, por lo que al no obtenerse una distribución normal tampoco en estos casos, se optó por seguir tests no paramétricos.

En la población total, hubo tres casos de coriamnionitis de madres cuyos neonatos fueron prematuros (31, 31,5 y 32,5 semanas respectivamente), recibiendo el adecuado tratamiento antibiótico durante el embarazo.

Tabla 8. Prueba de normalidad de *Kolmogorov-Smirnov* de los marcadores bioquímicos y hematológicos en sangre del neonato.

		Leucocitos	Neutrófilos	Granulocitos inmaduros	Cociente	PCR	PCT	IL-6
N		534	536	536	535	559	484	485
Parámetros normales	Media	15,3x 10 ³ /μL	9,1 x 10 ³ /μL	0,325x10 ³ /μL	0,034	0,657 mg/dL	4,178 ng/mL	150,4 pg/mL
	Desviación típica	6,178	4,569	0,492	0,0418	1,564	11,490	602,091
Diferencias más extremas	Absoluta	0,051	0,042	0,259	0,226	0,337	0,358	0,402
	Positiva	0,051	0,039	0,225	0,194	0,322	0,319	0,374
	Negativa	-0,047	-0,042	-0,259	-0,226	-0,337	-0,358	-0,402
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,169	0,973	5,998	5,234	7,971	7,885	8,861
P		0,130	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

Tabla 9. Prueba de normalidad de *Kolmogorov-Smirnov* de los marcadores bioquímicos y hematológicos en sangre de cordón.

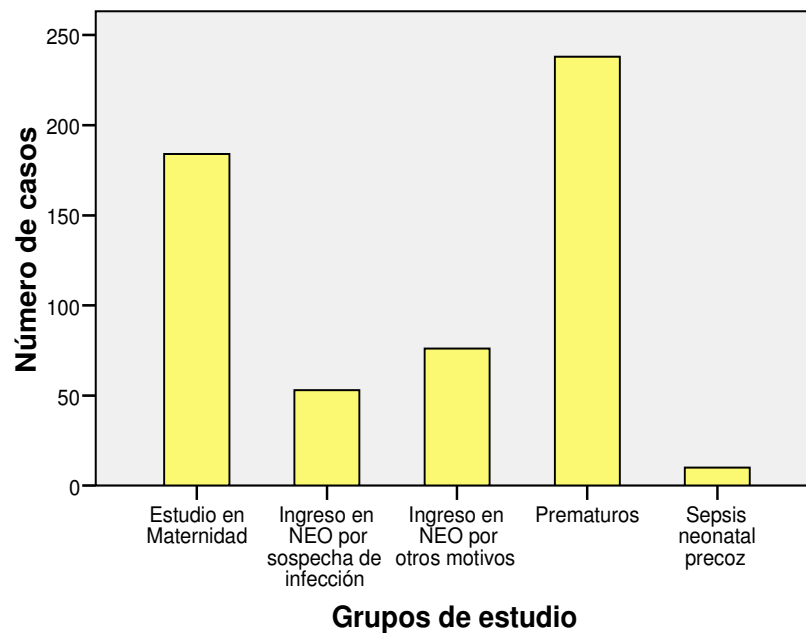
		Leucocitos	Neutrófilos	Granulocitos inmaduros	Cociente	PCR	PCT	IL-6
N		426	422	422	421	561	549	544
Parámetros normales	Media	14,1 x 10 ³ /μL	8,07 x 10 ³ /μL	0,322 x 10 ³ /μL	0,036	0,045 mg/dL	0,245 ng/mL	152,4 pg/mL
	Desviación típica	6,971	4,262	0,410	0,0327	0,223	1,898	714,366
Diferencias más extremas	Absoluta	0,089	0,091	0,216	0,190	0,419	0,451	0,451
	Positiva	0,089	0,091	0,194	0,190	0,403	0,440	0,451
	Negativa	-0,045	-0,052	-0,216	-0,151	-0,419	-0,451	-0,416
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,827	1,871	4,436	3,902	9,925	10,565	10,527
p		0,003	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

4.1.2. Características generales de los grupos de estudio:

Como ya se ha descrito en el apartado de sujetos y método, la población fue clasificada en cinco grupos de estudio, con las características que se detallan a continuación:

Figura 7. Distribución de los neonatos (número de casos) en los grupos de estudio de la población.



1- Grupo 1: Neonatos con estudio en Maternidad

Este grupo estuvo formado por 184 recién nacidos a término que, procedentes del paritorio o del quirófano, ingresaron en la Unidad de Maternidad para su seguimiento del recién nacido aparentemente normal; se les solicitó una analítica de urgencia (hemograma y PCR) y, ante una evolución clínica y resultados analíticos favorables, fueron dados de alta sin precisar ingreso hospitalario.

Las características de la población de estudio, tanto maternas como las propias del neonato, así como las características bioquímicas de la sangre de cordón y del neonato, y los resultados microbiológicos se detallan a continuación en las siguientes tablas.

Tabla 10. Características del grupo 1: a) características maternas; b) características de los neonatos.

a. Características maternas		Número de casos
Edad materna: 16-42 años (Media $\pm$ SD: 31,07 $\pm$ 5,5 años)		
Resultado Test SGB	SGB negativo	107
	SGB positivo	62
	Test no realizado	2
	No constan datos clínicos	13
Horas de rotura de membranas previas al parto	<12h	125
	12-24h	26
	>24h	20
	No constan datos clínicos	13
Temperatura materna intraparto	T ^a $\leq$ 37,5°C	156
	T ^a > 37,5°C	15
	No constan datos clínicos	13
Tipo de anestesia utilizada	Epidural	131
	Raquídea/general	16
	Local	14
	Sin anestesia	13
	No constan datos clínicos	10

b. Características neonatales (N= 184)	Media ± SD	Mínimo-Máximo
Edad de gestación (semanas)	39,6 ± 1,3	37,0-42,1
Peso al nacimiento (gramos)	3359,6 ± 448,1	2270-5000
Test de APGAR 1 (puntuación)	8,93 ± 0,51	7-10
Test de APGAR 5 (puntuación)	9,93 ± 0,29	8-10

Tabla 11. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en el grupo 1.

	Leucocitos (x10 ³ /μL)	Neutrófilos (x10 ³ /μL)	Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	Cociente
<i>N</i>	184	184	184	184
<i>Media</i>	16,29	9,74	0,42	0,0407
<i>Desviación típica</i>	6,44	4,29	0,53	0,0395
<i>E.T. de la media</i>	0,51	0,34	0,04	0,0031
<i>Mediana</i>	15,46	8,56	0,26	0,026
<i>Percentil 25</i>	12,17	7,23	0,12	0,0152
<i>Percentil 75</i>	19,8	11,92	0,49	0,0497
<i>Mínimo</i>	1,69	1,32	0	0
<i>Máximo</i>	43,61	23,7	4,2	0,2452

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	184	184	184
<i>Media</i>	0,03	0,132	17,16
<i>Desviación típica</i>	0,24	0,428	95,38
<i>E.T. de la media</i>	0,02	0,032	7,03
<i>Mediana</i>	0,01	0,085	3,86
<i>Percentil 25</i>	0	0,063	1,89
<i>Percentil 75</i>	0,03	0,106	7,83
<i>Mínimo</i>	0	0,02	1,5
<i>Máximo</i>	3,29	5,67	1267

Tabla 12. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en el grupo 1.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	184	184	184	184
<i>Media</i>	17,94	10,9	0,43	0,036
<i>Desviación típica</i>	5,18	4,02	0,61	0,039
<i>E.T. de la media</i>	0,39	0,3	0,05	0,003
<i>Mediana</i>	17,9	10,54	0,22	0,0208
<i>Percentil 25</i>	14,37	8,1	0,11	0,0118
<i>Percentil 75</i>	20,68	13,24	0,46	0,0439
<i>Mínimo</i>	6,12	1,41	0,01	0,005
<i>Máximo</i>	34,29	22,48	4,6	0,3233

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	184	184	184
<i>Media</i>	0,5	2,273	63,52
<i>Desviación típica</i>	0,9	3,613	234,88
<i>E.T. de la media</i>	0,1	0,272	17,51
<i>Mediana</i>	0,2	1,12	20,78
<i>Percentil 25</i>	0	0,552	10,88
<i>Percentil 75</i>	0,6	2,46	43,7
<i>Mínimo</i>	0	0,011	2,73
<i>Máximo</i>	4,1	28,36	2997

En este grupo no se realizaron estudios microbiológicos ni técnicas de biología molecular en sangre de cordón, puesto que los neonatos presentaron buen estado general.

2- Grupo 2: Neonatos con ingreso en Neonatología por sospecha de infección

El grupo de neonatos que ingresaron en Neonatología por sospecha de infección estuvo formado por 53 recién nacidos a término que ingresaron en esta unidad en los tres primeros días de vida, y presentaron clínica y/o analítica de sospecha de infección (hemograma y PCR).

Tabla 13. Características del grupo 2: a) características maternas; b) características de los neonatos.

a. Características maternas		Número de casos
Edad materna: 16-39 años (Media $\pm$ SD: 29,4 $\pm$ 5,3 años)		
Resultado Test SGB	SGB negativo	35
	SGB positivo	16
	Test no realizado	2
	No constan datos clínicos	32
Horas de rotura de membranas previas al parto	<12h	7
	12-24h	8
	>24h	6
	No constan datos clínicos	34
Temperatura materna intraparto	T ^a $\leq$ 37,5°C	16
	T ^a > 37,5°C	3
	No constan datos clínicos	45
Tipo de anestesia utilizada	Epidural	2
	Raquídea/general	3
	Local	1
	Sin anestesia	2
	No constan datos clínicos	35

b. Características neonatales (N= 53)	Media $\pm$ SD	Mínimo-Máximo
Edad de gestación (semanas)	39,9 $\pm$ 1,01	37-42
Peso al nacimiento (gramos)	3512,8 $\pm$ 405,5	2450-4500
Test de APGAR 1 (puntuación)	8,80 $\pm$ 0,57	6-10
Test de APGAR 5 (puntuación)	9,92 $\pm$ 0,34	6-10

Tabla 14. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en el grupo 2.

	Leucocitos (x10 ³ /μL)	Neutrófilos (x10 ³ /μL)	Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	Cociente
<i>N</i>	53	53	53	53
<i>Media</i>	17,85	10,29	0,39	0,0357
<i>Desviación típica</i>	7,73	4,11	0,33	0,0247
<i>E.T. de la media</i>	1,19	0,63	0,05	0,0038
<i>Mediana</i>	16,85	10,12	0,31	0,0297
<i>Percentil 25</i>	12,77	6,94	0,21	0,0216
<i>Percentil 75</i>	22,75	12,78	0,47	0,0418
<i>Mínimo</i>	5,52	3,36	0,05	0,0086
<i>Máximo</i>	34,54	19,96	1,6	0,1418

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	53	53	53
<i>Media</i>	0,11	0,622	758,78
<i>Desviación típica</i>	0,38	2,895	1465,57
<i>E.T. de la media</i>	0,05	0,398	201,31
<i>Mediana</i>	0,02	0,104	38,02
<i>Percentil 25</i>	0	0,071	3,83
<i>Percentil 75</i>	0,03	0,271	463,7
<i>Mínimo</i>	0	0,024	1,5
<i>Máximo</i>	2,64	21,16	5.000

Tabla 15. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en el grupo 2.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	53	53	53	53
<i>Media</i>	16,65	10,77	0,33	0,0352
<i>Desviación típica</i>	5,6	4,62	0,34	0,0439
<i>E.T. de la media</i>	0,79	0,65	0,05	0,0061
<i>Mediana</i>	17,96	10,69	0,2	0,019
<i>Percentil 25</i>	11,12	6,96	0,1	0,0123
<i>Percentil 75</i>	20,55	14,22	0,48	0,0389
<i>Mínimo</i>	6,11	2,55	0,02	0,0026
<i>Máximo</i>	26,79	20,48	1,68	0,2196

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	53	53	53
<i>Media</i>	3,5	14,898	436,72
<i>Desviación típica</i>	2,7	19,931	1074,12
<i>E.T. de la media</i>	0,4	2,847	155,04
<i>Mediana</i>	3,3	5,62	87,33
<i>Percentil 25</i>	0,8	1,19	34,44
<i>Percentil 75</i>	5,5	24,95	272,55
<i>Mínimo</i>	0	0,067	3,57
<i>Máximo</i>	9,5	100	5.000

Tabla 16. Resultados del estudio microbiológico (hemocultivo) en sangre neonatal, y de las técnicas de biología molecular (*Septifast*) realizadas en sangre de cordón.

HEMOCULTIVO	Nº casos	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	48	88,7	92,2
SCN	4	7,6	7,8
Total	52	96,3	100

SCN: *Staphilococo coagulasa negativo*.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	31	58,5	62
<i>Staphilococcus aureus</i>	3	5,7	6
SCN	1	1,9	2
<i>Staphiloccus spp.</i>	1	1,9	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1,9	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3,8	4
<i>Escherichia coli</i>	2	3,8	4
<i>E.coli/Pseud.aer/Sten.malt</i>	2	3,8	4
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	2	3,8	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,9	2
Probable Gram+	3	5,7	6
Probable Gram-	1	1,9	2
Total	50	94,3	100

SCN: *Staphilococo coagulasa negativo*.

3- Grupo 3: Neonatos con ingreso en Neonatología por otros motivos

Este grupo de estudio estuvo formado por 76 recién nacidos a término que ingresaron en la Unidad de Neonatología por diferentes motivos, exceptuando una sospecha de infección, a los que se procedió a su estudio y observación.

Tabla 17. Características del grupo 3: a) características maternas; b) características de los neonatos.

a. Características maternas		Número de casos
Edad materna: 17-41 años (Media $\pm$ SD: 30,4 $\pm$ 5,8 años)		
Resultado Test SGB	SGB negativo	49
	SGB positivo	15
	Test no realizado	2
	No constan datos clínicos	10
Horas de rotura de membranas previas al parto	<12h	52
	12-24h	8
	>24h	2
	No constan datos clínicos	14
Temperatura materna intraparto	T ^a $\leq$ 37,5°C	62
	T ^a > 37,5°C	5
	No constan datos clínicos	9
Tipo de anestesia utilizada	Epidural	41
	Raquídea/general	11
	Local	4
	Sin anestesia	8
	No constan datos clínicos	12

b. Características neonatales (N= 76)	Media $\pm$ SD	Mínimo-Máximo
Edad de gestación (semanas)	39,1 $\pm$ 1,5	37,0-42,0
Peso al nacimiento (gramos)	3107,3 $\pm$ 617,7	1690-4490
Test de APGAR 1 (puntuación)	8,53 $\pm$ 1,29	3-10
Test de APGAR 5 (puntuación)	9,54 $\pm$ 1,09	3-10

Tabla 18. Motivo de ingreso del grupo 3 (Neonatos con ingreso en Neonatología por otros motivos, exceptuando por sospecha de infección).

	Frecuencia (N)	Porcentaje %
Miscelánea*	38	50,0
Taquipnea transitoria	21	27,6
Hipoglucemia	6	7,9
Motivo de ingreso no conocido	5	6,6
Asfixia perinatal	4	5,3
Malformación	2	2,6
Total	76	100,0

* El motivo de ingreso denominado como *Miscelánea* incluía los siguientes:

- Hidronefrosis.
- Anemia.
- Bajo peso al nacimiento.
- Deshidratación.
- Cardiopatías.
- Cianosis.
- Neumotórax.
- Problema social.
- Sífilis congénita.
- Sospecha materna de LUES.
- Toxoplasmosis congénita.
- Traqueomalacia.
- Trombopenia aloinmune.
- Hijo de madre diabética.

Tabla 19. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en el grupo 3.

	Leucocitos (x10 ³ /μL)	Neutrófilos (x10 ³ /μL)	Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	Cociente
<i>N</i>	76	76	76	76
<i>Media</i>	14,83	8,42	0,33	0,0379
<i>Desviación típica</i>	6,76	4,24	0,33	0,0297
<i>E.T. de la media</i>	0,95	0,59	0,05	0,0042
<i>Mediana</i>	14,65	7,99	0,2	0,0269
<i>Percentil 25</i>	11,35	6,48	0,15	0,0188
<i>Percentil 75</i>	19,01	10,74	0,44	0,055
<i>Mínimo</i>	2,38	1,24	0	0
<i>Máximo</i>	36,29	23,33	1,66	0,1255

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	76	76	76
<i>Media</i>	0,07	0,646	280,62
<i>Desviación típica</i>	0,29	4,467	1033,06
<i>E.T. de la media</i>	0,03	0,519	121,75
<i>Mediana</i>	0	0,087	5,82
<i>Percentil 25</i>	0	0,061	2,48
<i>Percentil 75</i>	0,03	0,113	20,44
<i>Mínimo</i>	0	0,02	1,5
<i>Máximo</i>	2,34	38,52	5.000

Tabla 20. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en el grupo 3.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	76	76	76	76
<i>Media</i>	14,87	9,22	0,27	0,0293
<i>Desviación típica</i>	6,39	5,31	0,39	0,0368
<i>E.T. de la media</i>	0,75	0,62	0,05	0,0043
<i>Mediana</i>	14,82	8,77	0,17	0,0177
<i>Percentil 25</i>	9,71	5,27	0,07	0,0112
<i>Percentil 75</i>	18,02	11,54	0,32	0,0361
<i>Mínimo</i>	5,69	2,04	0,02	0,004
<i>Máximo</i>	46,07	36,61	2,84	0,2598

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	76	76	76
<i>Media</i>	0,6	4,779	351,08
<i>Desviación típica</i>	1,5	18,591	1094,11
<i>E.T. de la media</i>	0,2	2,462	140,09
<i>Mediana</i>	0	0,397	20,01
<i>Percentil 25</i>	0,4	0,168	10,69
<i>Percentil 75</i>	0,4	1,1	76,52
<i>Mínimo</i>	0	0,02	3,59
<i>Máximo</i>	8,8	100	5.000

Tabla 21. Resultados del estudio microbiológico (hemocultivo) en sangre neonatal, y de las técnicas de biología molecular (*Septifast*) realizadas en sangre de cordón.

HEMOCULTIVO	Nº casos	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	53	69,7	82,8
SCN	7	9,2	11,0
<i>Streptococcus spp</i>	1	1,3	1,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1,3	1,6
<i>Escherichia coli</i>	1	1,3	1,6
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,3	1,6
Total	64	84,2	100

SCN: *Staphilococo coagulasa negativo*.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	50	65,8	86,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1,3	1,7
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	3	3,9	5,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2,6	3,4
Probable Gram+	2	2,6	3,4
Total	58	76,3	100

4- Grupo 4: Neonatos pretérmino

El grupo de neonatos pretérmino estuvo formado por 238 recién nacidos con edad gestacional inferior a 37 semanas que, independientemente de otros motivos de ingreso, pasaron a la Sección de Neonatología o a la Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatología para someterlos a una observación continua.

Tabla 22. Características del grupo 4: a) características maternas; b) características de los neonatos.

a. Características maternas		Número de casos
Edad materna: 16-46 años (Media $\pm$ SD: 32,0 $\pm$ 5,6 años)		
Resultado Test SGB	SGB negativo	111
	SGB positivo	19
	Test no realizado	38
	No constan datos clínicos	70
Horas de rotura de membranas previas al parto	<12h	164
	12-24h	18
	>24h	29
	No constan datos clínicos	27
Temperatura materna intraparto	T ^a $\leq$ 37,5°C	213
	T ^a > 37,5°C	8
	No constan datos clínicos	17
Tipo de anestesia utilizada	Epidural	121
	Raquídea/general	80
	Local	14
	Sin anestesia	11
	No constan datos clínicos	12

b. Características neonatales (N= 238)	Media $\pm$ SD	Mínimo-Máximo
Edad de gestación (semanas)	34,5 $\pm$ 1,7	28-36,6
Peso al nacimiento (gramos)	2328,6 $\pm$ 592,5	1130-4330
Test de APGAR 1 (puntuación)	8,83 $\pm$ 0,66	3-10
Test de APGAR 5 (puntuación)	9,8 $\pm$ 0,39	7-10

Tabla 23. Parámetros hematológicos y marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en el grupo 4.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	238	238	238	238
<i>Media</i>	10,64	5,75	0,2	0,0325
<i>Desviación típica</i>	5,84	3,11	0,27	0,0273
<i>E.T. de la media</i>	0,45	0,24	0,02	0,0022
<i>Mediana</i>	9,89	5,2	0,12	0,0226
<i>Percentil 25</i>	7,8	3,57	0,06	0,0145
<i>Percentil 75</i>	12,66	7,51	0,25	0,04
<i>Mínimo</i>	1,78	1,1	0	0,004
<i>Máximo</i>	46,4	18,07	2,27	0,128

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	238	238	238
<i>Media</i>	0,03	0,127	85,34
<i>Desviación típica</i>	0,11	0,32	529,21
<i>E.T. de la media</i>	0,01	0,021	35,28
<i>Mediana</i>	0,02	0,087	5,26
<i>Percentil 25</i>	0	0,065	2,3
<i>Percentil 75</i>	0,03	0,116	13,36
<i>Mínimo</i>	0	0,01	1,5
<i>Máximo</i>	1,6	4,46	5.000

Tabla 24. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en el grupo 4.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	238	238	238	238
<i>Media</i>	13,4	7,41	0,26	0,0341
<i>Desviación típica</i>	6,14	4,04	0,43	0,0445
<i>E.T. de la media</i>	0,41	0,27	0,03	0,003
<i>Mediana</i>	12,28	6,79	0,15	0,0215
<i>Percentil 25</i>	9,67	4,19	0,07	0,011
<i>Percentil 75</i>	16,36	9,59	0,3	0,0397
<i>Mínimo</i>	3,2	0,55	0	0
<i>Máximo</i>	67,62	23,79	4,6	0,3272

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	238	238	238
<i>Media</i>	0,1	3,088	72,65
<i>Desviación típica</i>	0,4	9,262	193,82
<i>E.T. de la media</i>	0	0,668	14,1
<i>Mediana</i>	0	0,438	18,95
<i>Percentil 25</i>	0	0,155	8,58
<i>Percentil 75</i>	0	1,665	67,33
<i>Mínimo</i>	0	0,017	1,5
<i>Máximo</i>	5,9	100	2213

Tabla 25. Resultados del estudio microbiológico (hemocultivo) en sangre neonatal, y de las técnicas de biología molecular (*Septifast*) realizadas en sangre de cordón.

HEMOCULTIVO	Nº casos	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	87	33,9	88,0
SCN	2	2,0	5,1
<i>Streptococcus spp</i>	2	0,4	0,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	0,7	1,9
Total	91	38,5	100

SCN: *Staphilococo coagulasa negativo*.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	64	26,9	82,1
<i>Staphilococcus aureus</i>	2	0,8	2,6
SCN	2	0,8	2,6
<i>Staphiloccus spp.</i>	1	0,4	1,3
<i>Escherichia coli</i>	1	0,4	1,3
<i>E.coli/Pseud.aer/Sten.malt</i>	1	0,4	1,3
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	2	0,8	2,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,4	1,3
Probable Gram+	4	1,7	5,1
Total	78	32,8	100

SCN: *Staphilococo coagulasa negativo*.

5- Grupo 5: Neonatos con sepsis neonatal precoz

El grupo de neonatos con sepsis neonatal precoz estuvo formado por 10 recién nacidos que presentaron confirmación bacteriológica de infección o sepsis clínica en las primeras 72 horas de vida.

Tabla 26. Características del grupo 5: a) características maternas; b) características de los neonatos.

a. Características maternas		Número de casos
Edad materna: 19-41 años (Media $\pm$ SD: 30,7 $\pm$ 6,8 años)		
Resultado Test SGB	SGB negativo	4
	SGB positivo	2
	Test no realizado	2
	No constan datos clínicos	2
Horas de rotura de membranas previas al parto	<12h	7
	12-24h	1
	>24h	1
	No constan datos clínicos	1
Temperatura materna intraparto	T ^a $\leq$ 37,5°C	6
	T ^a > 37,5°C	3
	No constan datos clínicos	1
Tipo de anestesia utilizada	Epidural	7
	Raquídea/general	1
	Local	1
	Sin anestesia	1

b. Características neonatales (N= 10)	Media $\pm$ SD	Mínimo-Máximo
Edad de gestación (semanas)	37,4 $\pm$ 1,36	35,5-40,5
Peso al nacimiento (gramos)	2937 $\pm$ 625,2	2180-3990
Test de APGAR 1 (puntuación)	8,3 $\pm$ 1,63	4-9
Test de APGAR 5 (puntuación)	9,9 $\pm$ 0,31	9-10

Tabla 27. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en el grupo 5.

	Leucocitos (x10 ³ /μL)	Neutrófilos (x10 ³ /μL)	Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	Cociente
<i>N</i>	10	10	10	10
<i>Media</i>	12,89	7,69	0,34	0,0392
<i>Desviación típica</i>	7,26	2,95	0,43	0,0378
<i>E.T. de la media</i>	2,75	1,11	0,16	0,0143
<i>Mediana</i>	11,37	8,36	0,17	0,0278
<i>Percentil 25</i>	8,53	6,28	0,07	0,0139
<i>Percentil 75</i>	14,49	10,29	0,41	0,049
<i>Mínimo</i>	3,65	2,16	0,06	0,0111
<i>Máximo</i>	27,12	10,65	1,27	0,1192

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	10	10	10
<i>Media</i>	0,03	0,08	14,35
<i>Desviación típica</i>	0,02	0,044	16,51
<i>E.T. de la media</i>	0,01	0,014	5,22
<i>Mediana</i>	0,03	0,067	6,96
<i>Percentil 25</i>	0,01	0,056	5,68
<i>Percentil 75</i>	0,04	0,09	21,63
<i>Mínimo</i>	0	0,036	1,5
<i>Máximo</i>	0,06	0,189	55,44

Tabla 28. Parámetros hematológicos y bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en el grupo 5.

	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Cociente
<i>N</i>	10	10	10	10
<i>Media</i>	11,79	6,82	0,4	0,0454
<i>Desviación típica</i>	7,31	4,34	0,51	0,0401
<i>E.T. de la media</i>	2,31	1,37	0,16	0,0127
<i>Mediana</i>	10,69	6	0,29	0,0377
<i>Percentil 25</i>	5,88	3,56	0,04	0,011
<i>Percentil 75</i>	18,42	10,26	0,5	0,0568
<i>Mínimo</i>	2,31	1,31	0,01	0,0063
<i>Máximo</i>	22,83	13,77	1,69	1,227

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

	PCR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
<i>N</i>	10	10	10
<i>Media</i>	1,6	2,761	771,23
<i>Desviación típica</i>	3,6	4,037	1865,33
<i>E.T. de la media</i>	1,1	1,346	705,03
<i>Mediana</i>	0	0,349	63,74
<i>Percentil 25</i>	0	0,275	21,49
<i>Percentil 75</i>	0,2	2,85	133,1
<i>Mínimo</i>	0	0,08	19,33
<i>Máximo</i>	10,9	9,82	5.000

Tabla 29. Resultados del estudio microbiológico (hemocultivo) en sangre neonatal, y de las técnicas de biología molecular (*Septifast*) realizadas en sangre de cordón.

HEMOCULTIVO (N=10)	Nº casos	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	3	30	30
<i>Staphilococcus aureus</i>	1	10	10
<i>Escherichia coli</i>	2	20	20
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	20	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	20	20
Total	10	100	100

SEPTIFAST en sangre de cordón	N	Porcentaje %	Porcentaje válido %
Negativo	5	50	50
<i>Staphilococcus aureus</i>	1	10	10
<i>Staphiloccus spp.</i>	1	10	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	10	10
<i>Candida albicans</i>	1	10	10
Probable Gram+	1	10	10
Total	10	100	100

4.1.3. Descriptivo de los neonatos con sepsis neonatal precoz (Grupo 5):

El grupo de neonatos del grupo 5, por las características propias de la sepsis neonatal precoz, se describe en su totalidad a continuación en la tabla 30.

Tabla 30. Características descriptivas de los componentes del grupo de neonatos con sepsis neonatal precoz (Grupo 5, N=10).**- Neonato 1:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB- (fiebre intraparto), APGAR: 9/10, rotura membranas: 13h
<i>Procedencia</i>	Maternidad (23 horas de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Sospecha de infección, cianosis, estridor inspiratorio
<i>Exploración</i>	Buen estado general
<i>Evolución</i>	Al 3 ^{er} día taquicardia supraventricular (Síndrome <i>Wolf-Parkinson-White</i>)
<i>Hemocultivo</i>	<i>Staphilococcus aureus</i>
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,06 mg/dL, PCT: 0,104 ng/mL, IL-6: 7,3 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí
<i>Diagnóstico</i>	Bacteriemia Stafilocócica, Síndrome <i>Wolf-Parkinson-White</i>

- Neonato 2:

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB no consta, APGAR: 9/10, rotura membranas: 10h
<i>Procedencia</i>	Quirófano (3 días de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Hipoglucemia
<i>Exploración</i>	Regular estado general (Pasa a UCIN)
<i>Evolución</i>	Sepsis por <i>Klebsiella</i> (4º día), shock séptico, fallo multiorgánico secundario
<i>Hemocultivo</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,04 mg/dL, PCT: 0,056 ng/mL, IL-6: 6,09 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí (18 días)
<i>Diagnóstico</i>	Sepsis por <i>Klebsiella</i> , shock séptico, fallo multiorgánico secundario

- **Neonato 3:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB+ (diabética), APGAR: 9/10, rotura membranas: 7h
<i>Procedencia</i>	Quirófano (1 hora de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Glucemia= 33 mg/dL
<i>Exploración</i>	Buen estado general
<i>Evolución</i>	Hipoglucemia, sepsis por <i>Enterobacter/Klebsiella</i> (fiebre 39,3°C a los 3 días)
<i>Hemocultivo</i>	<i>Enterobacter spp.</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,05 mg/dL, PCT: 0,065 ng/mL, IL-6: 55,4 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí (10 días)
<i>Diagnóstico</i>	Hipoglucemia, sepsis por <i>Klebsiella/Enterobacter</i>

- **Neonato 4:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB no realizado, APGAR: 9/10, rotura membranas: 10h
<i>Procedencia</i>	Paritorio (2-3 horas de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Glucemia= 36 mg/dL, Coombs directo positivo (hiperbilirrubinemia)
<i>Exploración</i>	Buen estado general
<i>Evolución</i>	Sospecha infección
<i>Hemocultivo</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,0 mg/dL, PCT: 0,189 ng/mL, IL-6: 5,68 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí (7 días)
<i>Diagnóstico</i>	Hipoglucemia, infección por <i>Escherichia coli</i> , Hiperbilirrubinemia

- Neonato 5:

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB+ (fiebre intraparto), APGAR: 9/10, rotura membranas: 7h
<i>Procedencia</i>	Maternidad (22 horas de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Glucemia = 23 mg/dL, mala tolerancia oral
<i>Exploración</i>	Buen estado general
<i>Evolución</i>	Flebitis en mano derecha, pico febril a las 36h, coagulopatía y trombopenia
<i>Hemocultivo</i>	<i>Escherichia coli</i> (en hemocultivo y cultivo de pus de absceso)
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,02 mg/dL, PCT: 0,086 ng/mL, IL-6: 6,62 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí (15 días)
<i>Diagnóstico</i>	Hipoglucemia, sepsis por <i>Escherichia coli</i> , coagulopatía y trombopenia 2 ^{as} , absceso secundario en mano derecha

- Neonato 6:

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB no consta, Coombs indirecto positivo, APGAR: 9/9
<i>Procedencia</i>	Maternidad (12 horas de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Distrés respiratorio, quejido e isoinmunización
<i>Exploración</i>	Poca ventilación (regular estado general), clínica de sepsis
<i>Evolución</i>	Distrés respiratorio 2 ^{ario} , sospecha sepsis neonatal, shock 2 ^{ario} , ictericia
<i>Hemocultivo</i>	Negativo
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,03 mg/dL, PCT: 0,09 ng/mL, IL-6: 26,5 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí (10 días)
<i>Diagnóstico</i>	Madre con Coombs indirecto positivo, distrés respiratorio, Sepsis precoz (germen desconocido), ictericia

- **Neonato 7:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB+, APGAR: 7/9, rotura membranas: 7h
<i>Procedencia</i>	Maternidad (12 horas)
<i>Motivo de ingreso</i>	Fiebre, quejido, leucopenia y acidosis mixta
<i>Exploración</i>	Mal estado general
<i>Evolución</i>	Posible sepsis, coagulopatía, leucopenia y neutropenia
<i>Hemocultivo</i>	Negativo
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,03 mg/dL, PCT: 0,066 ng/mL, IL-6: 21,6 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí (14 días)
<i>Diagnóstico</i>	Sepsis clínica sin confirmación bacteriológica

- **Neonato 8:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB-, APGAR: 9/10, rotura membranas: 10h, fiebre materna postparto
<i>Procedencia</i>	Maternidad (30 horas de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Fiebre 38,3°C, sin otros síntomas, PCR = 11,9 mg/dL, anemia, trombopenia
<i>Exploración</i>	Clínica de sepsis (regular estado general)
<i>Evolución</i>	Favorable
<i>Hemocultivo</i>	Negativo
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,0 mg/dL, PCT: 0,067 ng/mL, IL-6: 3,42 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí
<i>Diagnóstico</i>	Sepsis clínica sin confirmación bacteriológica

- **Neonato 9:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB-, APGAR: 9/10, rotura membranas: 0h
<i>Procedencia</i>	Quirófano (2 horas de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Bajo peso al nacer, malformaciones por Síndrome de Down
<i>Exploración</i>	Buen estado general
<i>Evolución</i>	Sepsis asintomática, síndrome de Down, RN pretérmino (RNPT) pequeño
<i>Hemocultivo</i>	<i>Klebs pneumoniae</i>
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,01 mg/dL, PCT: 0,036 ng/mL, IL-6: 9,29 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí
<i>Diagnóstico</i>	Sepsis por <i>Klebsiella</i> , asintomática, síndrome de Down, RNPT pequeño

- **Neonato 10:**

<i>Antecedentes</i>	Madre: SGB no realizado, APGAR: 9/10, rotura membranas: 6h
<i>Procedencia</i>	Maternidad (3 días de vida)
<i>Motivo de ingreso</i>	Sospecha de sepsis (ingreso en UCI a los 4 días), ictericia precoz (<24h vida)
<i>Exploración</i>	Regular estado general
<i>Evolución</i>	Clínica de sepsis, hiperbilirrubinemia, sospecha de crisis neurológica
<i>Hemocultivo</i>	<i>Enterobacter spp</i>
<i>Marcadores bioquímicos en SC</i>	PCR: 0,01 mg/dL, PCT: 0,041 ng/mL, IL-6: 1,5 pg/mL
<i>Tratamiento</i>	Sí
<i>Diagnóstico</i>	Sepsis por <i>Enterobacter spp.</i> , ictericia no inmune, depresión neurológica, anemia y coagulopatía secundaria

Figura 8. Distribución de los marcadores bioquímicos de sepsis (PCR, PCT e IL-6) en sangre de cordón en los diferentes grupos de estudio, expresada en escala logarítmica.

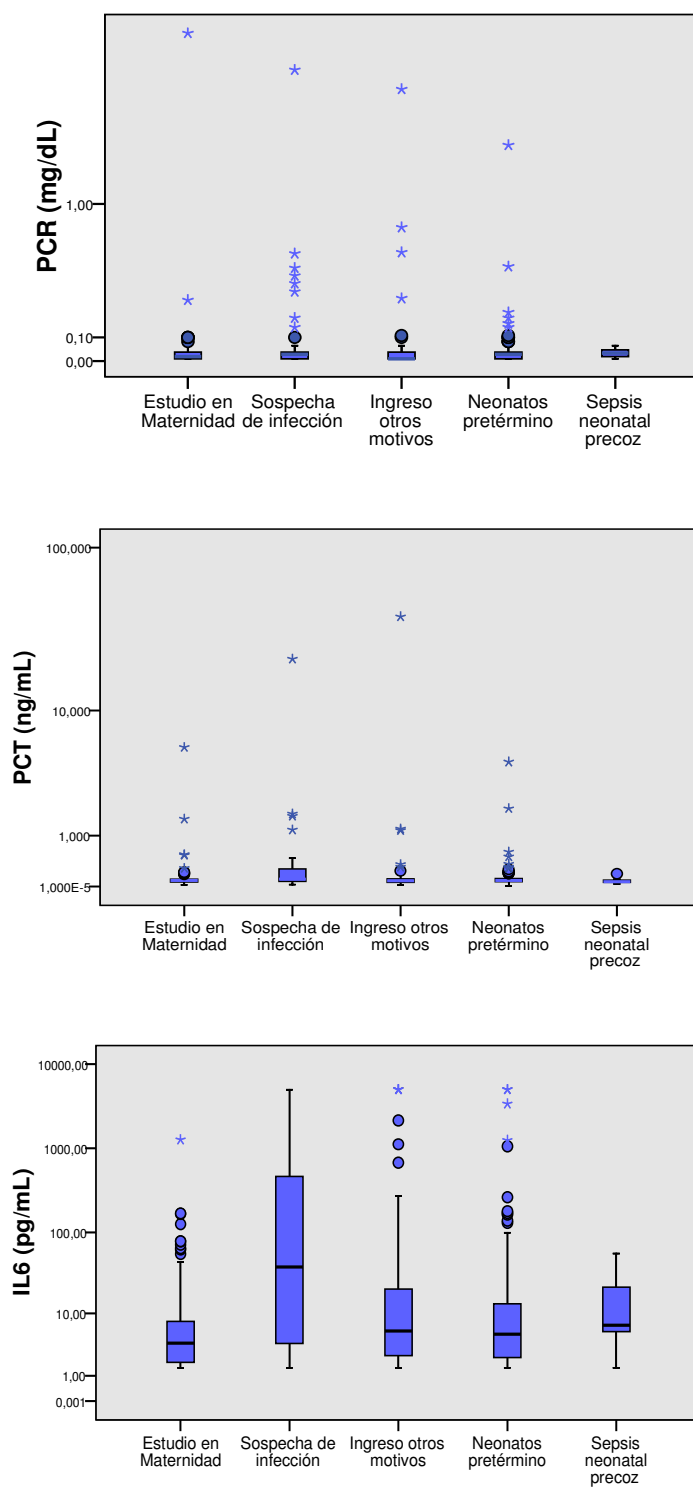
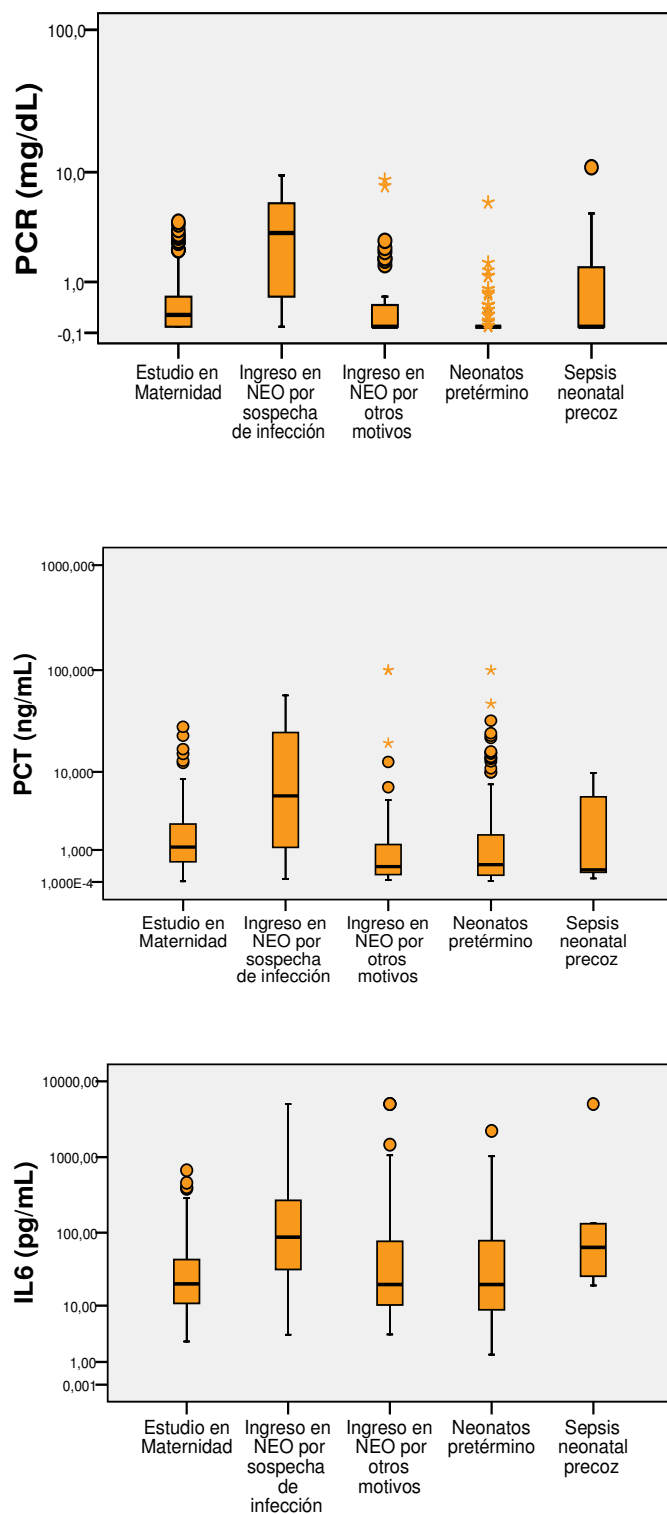


Figura 9. Distribución de los marcadores bioquímicos de sepsis (PCR, PCT e IL-6) en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida en los diferentes grupos de estudio, expresada en escala logarítmica.



4.2. Estudio analítico básico

4.2.1. Comparación de biomarcadores de las variables cuantitativas:

Los resultados de la prueba *U de Mann-Whitney* de las variables cuantitativas entre los diferentes grupos de estudio se muestran a continuación en las siguientes tablas.

Tabla 31. Prueba *U de Mann-Whitney* de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre de cordón entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección, N= 53).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1	99,11	2977	15857	-1,136	0,256
	G2	110,62				
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1	98,99	2958,5	15838,5	-1,191	0,234
	G2	111,06				
Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1	99,87	3098,5	15978,5	-0,776	0,438
	G2	107,73				
Cociente	G1	100,12	3139,5	16019,5	-0,654	0,513
	G2	106,75				
PCR (mg/dL)	G1	116,51	4418	21438	-1,109	0,267
	G2	127,64				
PCT (ng/mL)	G1	111,5	3496,5	20516,5	-3,137	0,002
	G2	145,03				
IL-6 (pg/mL)	G1	105,53	2398	19418	-5,646	0,000
	G2	165,75				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: *U de Mann-Whitney*, W: *W de Wilcoxon*.

Tabla 32. Prueba *U de Mann-Whitney* de los cocientes de los marcadores bioquímicos en sangre del neonato y sangre de cordón entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección, N= 53).

Variables cuantitativas	<i>Cociente PCR (neo/SC)</i>		<i>Cociente PCT (neo/SC)</i>		<i>Cociente IL-6 (neo/SC)</i>	
Grupos estudio	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
Media	21,8	86,2	26,3	110,8	14,6	68,6
SD	43,4	93,7	38,4	177,1	42,4	240
Rango promedio	55,15	86,37	104,81	144,9	116,81	105,85
U	638		2798		3905	
W	5294		18551		5081	
Z	-4,082		-3,798		-1,022	
<i>p</i>	0,000		0,000		0,307	

U: *U de Mann-Whitney*, W: *W de Wilcoxon*.

Tabla 33. Comparación de medias de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección, N= 53).

Variables cuantitativas	<i>Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)</i>		<i>Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)</i>	
Grupos de estudio	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
Media $\pm$ SD	17,94 $\pm$ 5,17	16,65 $\pm$ 5,59	10,90 $\pm$ 4,01	10,77 $\pm$ 4,62
t de <i>Student</i>	1,522		0,2	
<i>p</i>	0,074		0,067	

Tabla 34. Prueba *U* de Mann-Whitney de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección, N= 53).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	G1	115,19	4278,5	5604,5	-0,507	0,612
	G2	109,89				
Cociente	G1	115,53	4218,5	5544,5	-0,653	0,514
	G2	108,72				
PCR (mg/dL)	G1	99,81	1345	18365	-8,182	0,000
	G2	185,62				
PCT (ng/mL)	G1	102,52	2393,5	18146,5	-4,797	0,000
	G2	153,15				
IL-6 (pg/mL)	G1	101,91	2053,5	18343,5	-5,582	0,000
	G2	161,72				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

Tabla 35. Prueba *U de Mann-Whitney* de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre de cordón entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 3 (Ingreso por otros motivos, N= 76).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1	109,06	3591	4917	-1,288	0,198
	G3	96,41				
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1	110,01	3438	4764	-1,691	0,091
	G3	93,41				
Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1	107,75	3800	5126	-0,738	0,461
	G3	100,51				
Cociente	G1	105,34	3974	16854	-0,279	0,780
	G3	108,08				
PCR (mg/dL)	G1	130,13	6923,5	23943,5	-0,133	0,894
	G3	131,40				
PCT (ng/mL)	G1	128,21	6570,5	23590,5	-0,438	0,661
	G3	132,71				
IL-6 (pg/mL)	G1	120,02	5064	22084	-2,934	0,003
	G3	150,17				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: *U de Mann-Whitney*, **W:** *W de Wilcoxon*.

Tabla 36. Prueba *U* de Mann-Whitney de los cocientes de los marcadores bioquímicos en sangre del neonato y sangre de cordón entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 3 (Ingreso por otros motivos, N= 76).

Variables cuantitativas	Cociente PCR (neo/SC)		Cociente PCT (neo/SC)		Cociente IL-6 (neo/SC)	
	G1	G3	G1	G3	G1	G3
Media	21,81	4,74	26,33	29,27	14,55	38,73
SD	43,47	10,29	38,36	134,82	42,43	128,71
Rango promedio	72,83	49,63	127,67	80,56	121,51	115,39
U	1120,5		2891		5038	
W	1786,5		4431		6808	
Z	-3,238		-4,546		-0,59	
p	0,001		0,000		0,555	

U: *U* de Mann-Whitney, W: *W* de Wilcoxon.

Tabla 37. Comparación de medias de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 3 (Ingreso por otros motivos, N= 76).

Variables cuantitativas	Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)		Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	
	G1	G3	G1	G3
Media $\pm$ SD	17,94 $\pm$ 5,17	14,86 $\pm$ 6,39	10,90 $\pm$ 4,01	9,22 $\pm$ 5,31
t de Student	3,967		2,717	
p	0,239		0,157	

Tabla 38. Prueba *U de Mann-Whitney* de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1 (Estudio en Maternidad, N= 184) y el Grupo 3 (Ingreso por otros motivos, N= 76).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	G1	132,88	5036,5	7737,5	-2,683	0,007
	G3	105,99				
Cociente	G1	115,53	5500	8128	-1,63	0,103
	G3	112,89				
PCR (mg/dL)	G1	137,14	5586,5	8436,5	-2540	0,011
	G3	112,49				
PCT (ng/mL)	G1	129,38	2942,5	4595,5	-4729	0,000
	G3	80,62				
IL-6 (pg/mL)	G1	118,9	5111,5	21401,5	-0,804	0,421
	G3	127,2				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: *U de Mann-Whitney*, **W:** *W de Wilcoxon*.

Tabla 39. Prueba *U* de Mann-Whitney de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre de cordón entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) el Grupo 4 (Neonatos prematuros, N= 238).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Leucocitos (x10 ³ /μL)	G1,2,3	256,26	9296	23157	-9,653	0,000
	G4	139,5				
Neutrófilos (x10 ³ /μL)	G1,2,3	253,83	8897	22100	-9,728	0,000
	G4	136,42				
Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	G1,2,3	239,58	12502,5	25705,5	-6,705	0,000
	G4	158,68				
Cociente	G1,2,3	217,79	17763	30804	-2,194	0,028
	G4	191,33				
PCR (mg/dL)	G1,2,3	255,18	30730,5	79871,5	-3,665	0,000
	G4	303,38				
PCT (ng/mL)	G1,2,3	273,78	34279	60385	-0,658	0,511
	G4	264,85				
IL-6 (pg/mL)	G1,2,3	266,17	34351,5	82246,5	-0,234	0,815
	G4	269,33				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: *U* de Mann-Whitney, **W:** *W* de Wilcoxon.

Tabla 40. Prueba *U* de Mann-Whitney de los cocientes de los marcadores bioquímicos en sangre del neonato y sangre de cordón entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) y el Grupo 4 (Neonatos prematuros, N= 238).

Variables cuantitativas	<i>Cociente PCR</i> (neo/SC)		<i>Cociente PCT</i> (neo/SC)		<i>Cociente IL-6</i> (neo/SC)	
Grupos de estudio	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>
Media	28,88	3,83	41,63	34,54	28,56	18,03
SD	57,68	16,57	104,03	114,76	119,86	87,95
Rango promedio	169,03	109,8	207,8	152,97	195,88	166,2
U	4365,5		11187		13611	
W	18226,5		27840		30082	
Z	-6,937		-5,005		-2,702	
<i>p</i>	0,000		0,000		0,007	

U: *U* de Mann-Whitney, W: *W* de Wilcoxon.

Tabla 41. Comparación de medias de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) y el Grupo 4 (Neonatos prematuros, N= 238).

Variables cuantitativas	<i>Leucocitos</i> ($\times 10^3/\mu\text{L}$)		<i>Neutrófilos</i> ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	
Grupos de estudio	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>
Media $\pm$ SD	16,97 $\pm$ 5,69	13,40 $\pm$ 6,14	10,47 $\pm$ 4,51	7,41 $\pm$ 4,04
t de Student	6,878		8,074	
<i>p</i>	0,632		0,33	

Tabla 42. Prueba *U de Mann-Whitney* de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre de cordón entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) el Grupo 4 (Neonatos prematuros, N= 238).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	G1,2,3	286,82	26903	52554	-4,056	0,000
	G4	232,54				
Cociente	G1,2,3	264,08	33464	59115	-0,188	0,851
	G4	261,57				
PCR (mg/dL)	G1,2,3	328,25	20359	48562	-9,969	0,000
	G4	204,9				
PCT (ng/mL)	G1,2,3	264,46	19680,5	38208,5	-5,1	0,000
	G4	199				
IL-6 (pg/mL)	G1,2,3	250,83	24037	41992	-2,217	0,027
	G4	222,18				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: *U de Mann-Whitney*, **W:** *W de Wilcoxon*.

Tabla 43. Prueba *U* de Mann-Whitney de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre de cordón entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) el Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz, N= 10).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1,2,3	131,70	582,5	610,5	-1,544	0,123
	G5	87,21				
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1,2,3	131,22	704	732	-0,925	0,355
	G5	104,57				
Granulocitos inmaduros ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	G1,2,3	131,08	739,5	767,5	-0,744	0,457
	G5	109,64				
Cociente	G1,2,3	130,61	858,5	886,5	-0,138	0,891
	G5	126,64				
PCR (mg/dL)	G1,2,3	160,61	1129,5	50270,5	-1,594	0,111
	G5	205,55				
PCT (ng/mL)	G1,2,3	162,36	1133,5	1188,5	-1,459	0,145
	G5	118,85				
IL-6 (pg/mL)	G1,2,3	159,03	1246,5	49141,5	-1,041	0,298
	G5	189,85				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: *U* de Mann-Whitney, **W:** *W* de Wilcoxon.

Tabla 44. Prueba *U* de Mann-Whitney de los cocientes de los marcadores bioquímicos en sangre del neonato y sangre de cordón entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) y el Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz, N= 10).

Variables cuantitativas	<i>Cociente PCR</i> (neo/SC)		<i>Cociente PCT</i> (neo/SC)		<i>Cociente IL-6</i> (neo/SC)	
Grupos de estudio	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>	<i>G1,2,3</i>	<i>G4</i>
Media	28,88	30,63	41,63	40,28	28,56	224,13
SD	57,68	84,62	104,03	55,52	119,86	546,71
Rango promedio	53,97	34,81	93,96	84,44	93,62	103,71
U	242,5		715		562	
W	278,5		760		16852	
Z	-1,782		-0,517		-0,484	
<i>p</i>	0,075		0,605		0,628	

U: *U* de Mann-Whitney, W: *W* de Wilcoxon.

Tabla 45. Comparación de medias de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) y el Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz, N= 10).

Variables cuantitativas	<i>Leucocitos</i> ($\times 10^3/\mu\text{L}$)		<i>Neutrófilos</i> ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	
Grupos de estudio	<i>G1,2,3</i>	<i>G5</i>	<i>G1,2,3</i>	<i>G5</i>
Media $\pm$ SD	16,97 $\pm$ 5,69	11,79 $\pm$ 7,31	10,47 $\pm$ 4,51	6,82 $\pm$ 4,33
t de Student	2,804		2,526	
<i>p</i>	0,147		0,810	

Tabla 46. Comparación de medias de los marcadores hematológicos y bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida entre el Grupo 1+2+3 (N= 313) y el Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz, N= 10).

Variables cuantitativas	Grupos estudio	Rango promedio	U	W	Z	p
Granulocitos inmaduros (x10 ³ /μL)	G1,2,3	155,64	1458,5	1513,5	-0,149	0,882
	G5	151,35				
Cociente	G1,2,3	154,15	1242	46092	-0,910	0,363
	G5	180,30				
PCR (mg/dL)	G1,2,3	162,47	1258,5	1313,5	-1,078	0,281
	G5	131,35				
PCT (ng/mL)	G1,2,3	147,23	1067,5	1112,5	-0,826	0,409
	G5	123,61				
IL-6 (pg/mL)	G1,2,3	147,12	612	42517	-1,785	0,074
	G5	46,10				

Cociente: Granulocitos inmaduros/ neutrófilos totales.

U: U de Mann-Whitney, **W:** W de Wilcoxon.

4.2.2. Correlaciones bivariadas:

Se realizaron correlaciones entre los parámetros hematológicos y los bioquímicos, en sangre de cordón y en sangre del neonato, como se muestran en las siguientes tablas.

Además, se correlacionaron los marcadores de sepsis en sangre de cordón con los factores relacionados con el neonato y los maternos considerados como factores de riesgo.

Tabla 47. Matriz de correlaciones entre los parámetros hematológicos y bioquímicos en sangre de cordón de toda la población de estudio.

		Leucocitos	Neutrófilos	Granulocitos inmaduros	Cociente GI	PCR	PCT	IL-6
Leucocitos	Rho	.	0,902**	0,727**	0,349**	0,008	0,010	0,050
	<i>p</i>	.	0,000	0,000	0,000	0,871	0,839	0,302
Neutrófilos	Rho	.	.	0,673**	0,228**	-0,010	-0,019	0,072
	<i>p</i>	.	.	0,000	0,000	0,841	0,707	0,143
Granulocitos inmaduros	Rho	.	.	.	0,846**	0,015	0,001	0,057
	<i>p</i>	.	.	.	0,000	0,755	0,986	0,248
Cociente GI	Rho	.	.	.	.	0,035	0,007	0,062
	<i>p</i>	.	.	.	.	0,472	0,893	0,206
PCR	Rho	.	.	.	.	.	0,134**	0,139**
	<i>p</i>	.	.	.	.	.	0,002	0,001
PCT	Rho	.	.	.	.	.	.	0,147**
	<i>p</i>	.	.	.	.	.	.	0,001

Rho: Coeficiente de correlación *Rho de Spearman*; r: coeficiente de correlación de *Pearson*, *p*: Significancia bilateral** ($p < 0,05$).

Tabla 48. Matriz de correlaciones entre los parámetros hematológicos y bioquímicos en el neonato en las primeras 24 h de vida.

		Leucocitos	Neutrófilos	Granulocitos inmaduros	Cociente GI	PCR	PCT	IL-6
Leucocitos	r	.	0,899**	0,674**	0,341**	0,035	0,095*	-0,104*
	p	.	0,000	0,000	0,000	0,426	0,042	0,025
Neutrófilos	r	.	.	0,467**	0,097*	0,115**	0,178**	-0,021
	p	.	.	0,000	0,025	0,008	0,000	0,655
Granulocitos inmaduros	Rho	.	.	.	0,854**	-0,050	0,080	-0,042
	p	.	.	.	0,000	0,247	0,086	0,369
Cociente GI	Rho	.	.	.	.	-0,197**	-0,146**	-0,167**
	p	.	.	.	.	0,000	0,002	0,000
PCR	Rho	.	.	.	.	.	0,512**	0,266**
	p	.	.	.	.	.	0,000	0,000
PCT	Rho	.	.	.	.	.	.	0,383**
	p	.	.	.	.	.	.	0,000

Tabla 49. Matriz de correlaciones entre los parámetros bioquímicos de sepsis en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida (neo) y en sangre de cordón (SC).

		PCR neo	PCT neo	IL-6 neo	PCR SC	PCT SC	IL-6 SC
PCR neo	Rho	.	0,512**	0,266**	0,035	0,117**	0,152**
	<i>p</i>	.	0,000	0,000	0,415	0,006	0,000
	N	.	484	485	559	547	542
PCT neo	Rho	.	.	0,383**	-0,037	0,234**	0,047
	<i>p</i>	.	.	0,000	0,420	0,000	0,310
	N	.	.	451	484	472	469
IL-6 neo	Rho	.	.	.	-0,181**	0,180**	0,214**
	<i>p</i>	.	.	.	0,000	0,000	0,000
	N	.	.	.	485	477	475
PCR SC	Rho	.	.	.	.	0,134**	0,139**
	<i>p</i>	.	.	.	.	0,002	0,001
	N	.	.	.	.	549	544
PCT SC	Rho	.	.	.	.	.	0,147**
	<i>p</i>	.	.	.	.	.	0,001
	N	.	.	.	.	.	542

Rho: Coeficiente de correlación *Rho de Spearman*.

p: Significancia bilateral* ($p<0,05$), ** ($p<0,01$).

Tabla 50. Matriz de correlaciones entre marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón y factores de riesgo infeccioso en la población total de estudio (N = 561).

		PCT	IL-6	Peso	Edad gestac.	Tª parto	Rotura membr.	APGAR 1	APGAR 5	Cociente PCR	Cociente PCT	Cociente IL-6
PCR	Rho	0,134**	0,139**	-0,096*	-0,096*	-0,096*	-0,041	-0,034	-0,014	0,068	-0,116*	-0,219**
	p	0,002	0,001	0,021	0,024	0,028	0,355	0,420	0,741	0,213	0,012	0,000
PCT	Rho	.	0,147**	0,023	0,053	0,055	0,063	-0,164**	-0,132**	0,044	-0,117*	-0,051
	p	.	0,001	0,588	0,214	0,217	0,162	0,000	0,002	0,433	0,011	0,265
IL-6	Rho	.	.	-0,035	-0,005	0,106*	0,159**	-0,096*	-0,129**	0,185**	-0,034	-0,647**
	p	.	.	0,417	0,901	0,017	0,000	0,027	0,003	0,001	0,459	0,000
Peso	Rho	.	.	.	0,766**	0,285**	0,036	0,055	0,006	0,414**	0,320**	0,111*
	p	.	.	.	0,000	0,000	0,423	0,199	0,882	0,000	0,000	0,016
Edad gestación	Rho	.	.	.	.	0,253**	0,034	0,027	-0,004	0,454**	0,247**	0,101*
	p	.	.	.	.	0,000	0,450	0,532	0,934	0,000	0,000	0,028
Tª parto	Rho	.	.	.	.	.	0,118**	0,008	-0,056	0,061	0,123*	-0,004
	p	.	.	.	.	.	0,008	0,862	0,206	0,285	0,010	0,939
Rotura membranas	Rho	.	.	.	.	.	.	0,042	0,005	0,099	0,079	-0,068
	p	.	.	.	.	.	.	0,355	0,913	0,085	0,101	0,163
APGAR 1	Rho	.	.	.	.	.	.	.	0,699**	-0,039	0,014	0,085
	p	.	.	.	.	.	.	.	0,000	0,482	0,770	0,067
APGAR 5	Rho	.	.	.	.	.	.	.	.	0,025	0,100*	0,049
	p	.	.	.	.	.	.	.	.	0,648	0,032	0,288
Cociente PCR	Rho	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0,499**	0,012
	p	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0,000	0,838
Cociente PCT	Rho	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0,258**
	p	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0,000

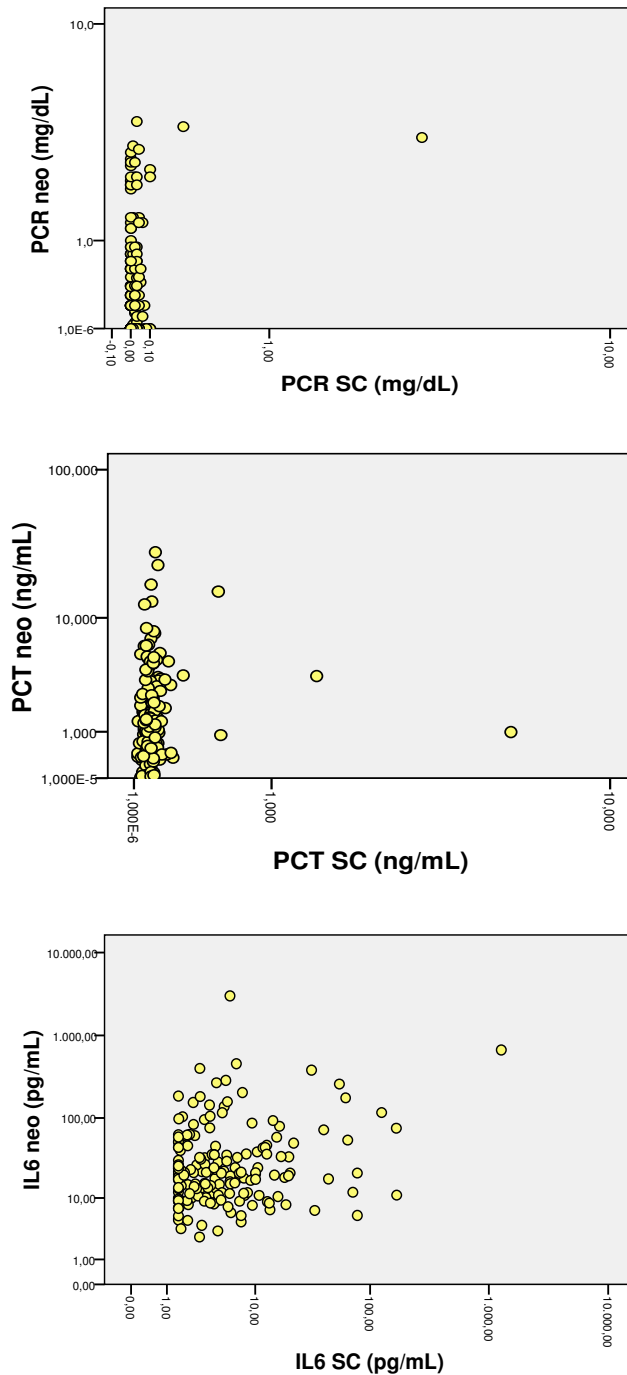
Rho: Coeficiente de correlación *Rho de Spearman*. p: Significancia bilateral* ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$).

Cociente PCR/PCT/IL-6: cocientes entre los marcadores bioquímicos en sangre del neonato a las 24h de vida y sangre de cordón.

A continuación, se muestran la correlación de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre del neonato con sus correspondientes en sangre de cordón.

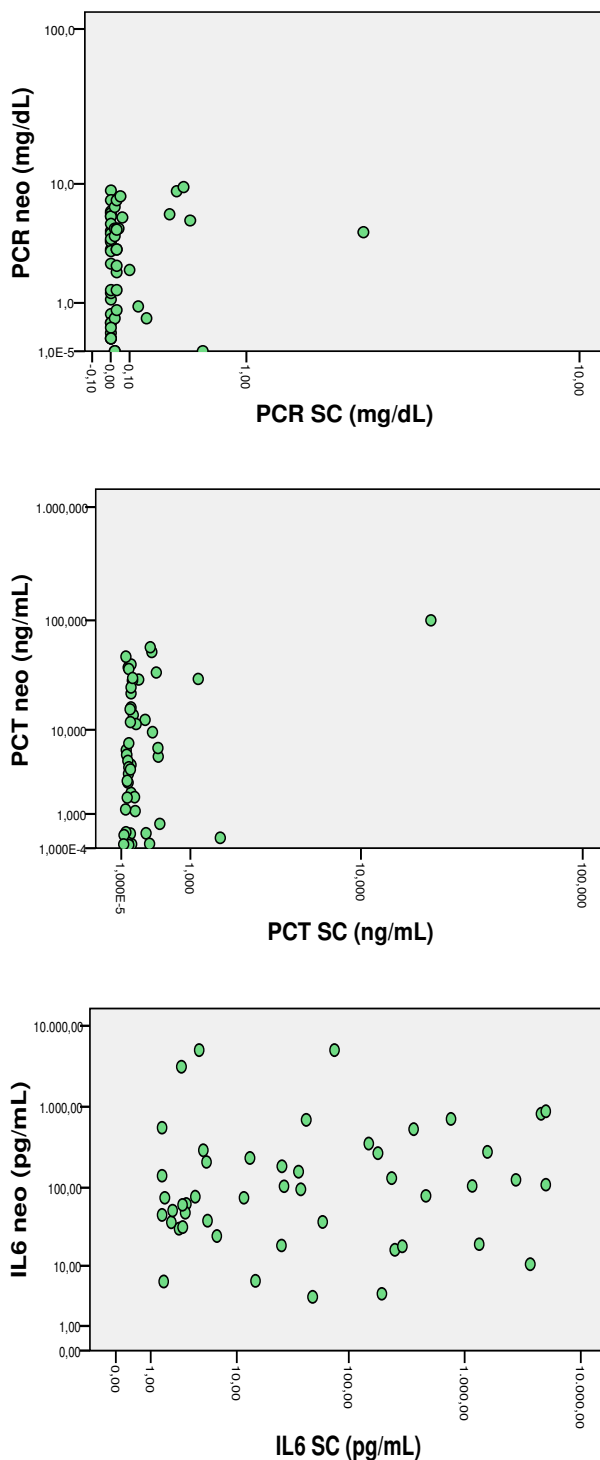
Grupo 1: Estudio en Maternidad

Figura 10. Gráficas de nube de puntos entre los marcadores bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida y en sangre de cordón en el Grupo 1, expresadas en escala logarítmica.



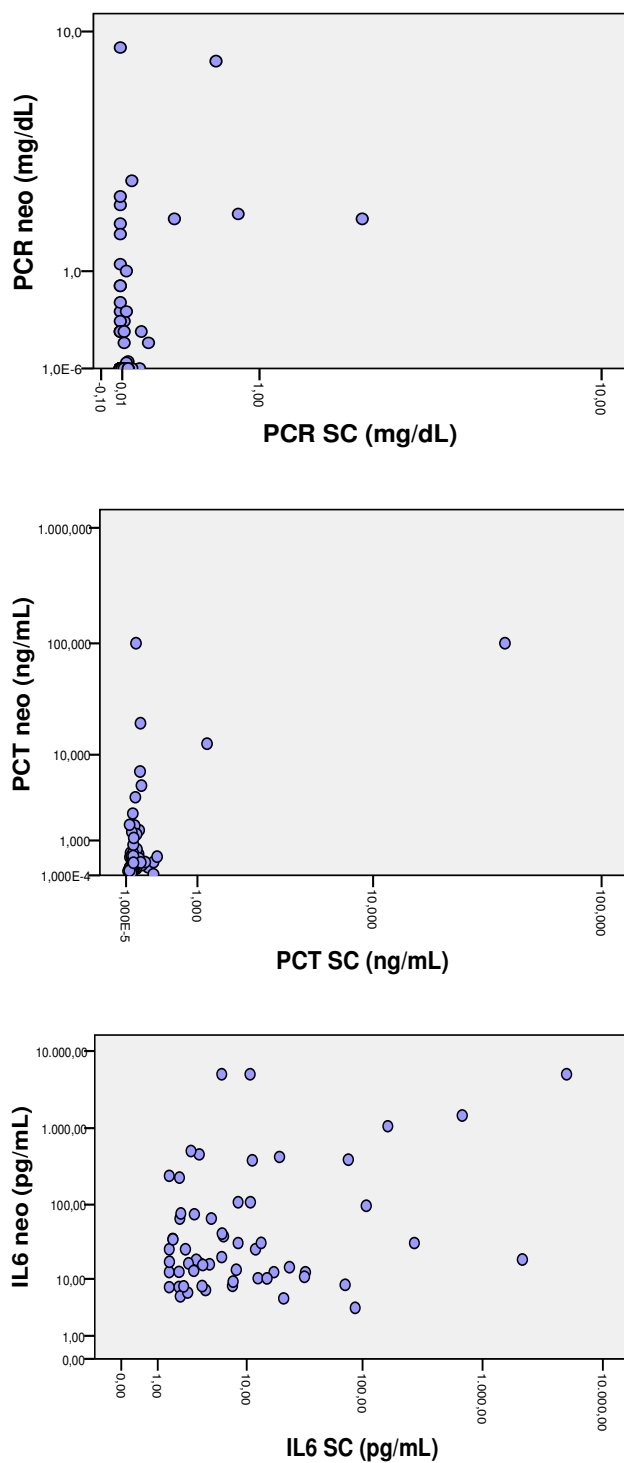
Grupo 2: Ingreso por sospecha de infección

Figura 11. Gráficas de nube de puntos entre los marcadores bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida y en sangre de cordón en el Grupo 2.



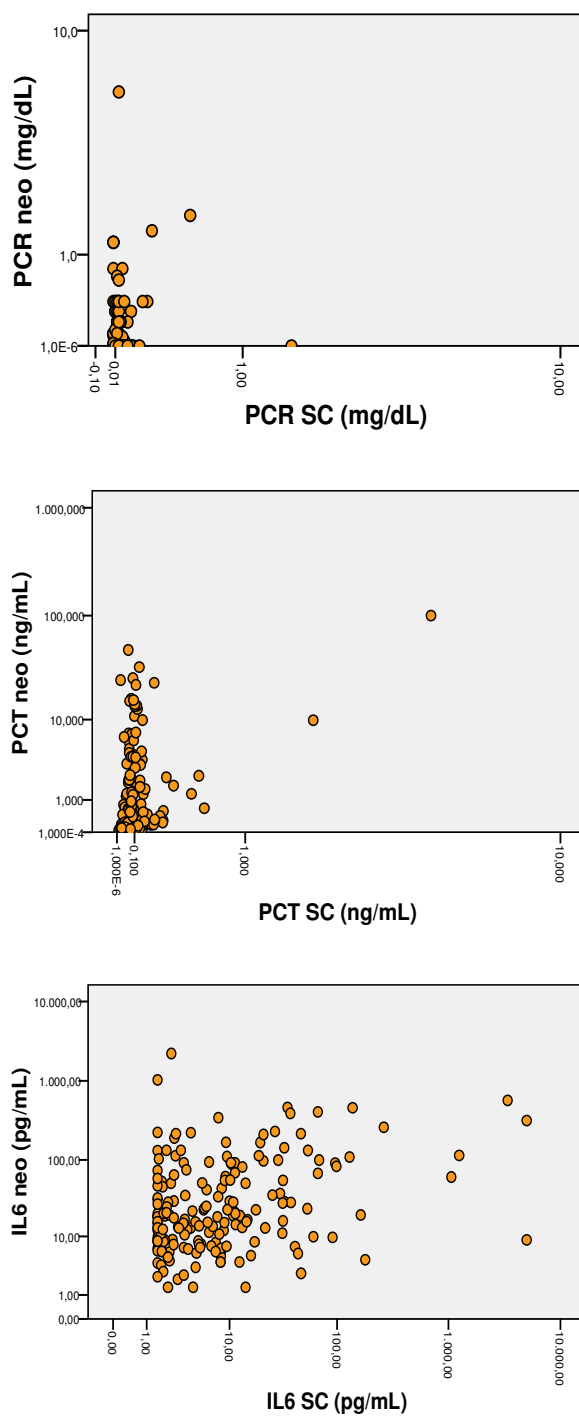
Grupo 3: Ingreso por otros motivos

Figura 12. Gráficas de nube de puntos entre los marcadores bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida y en sangre de cordón en el Grupo 3.



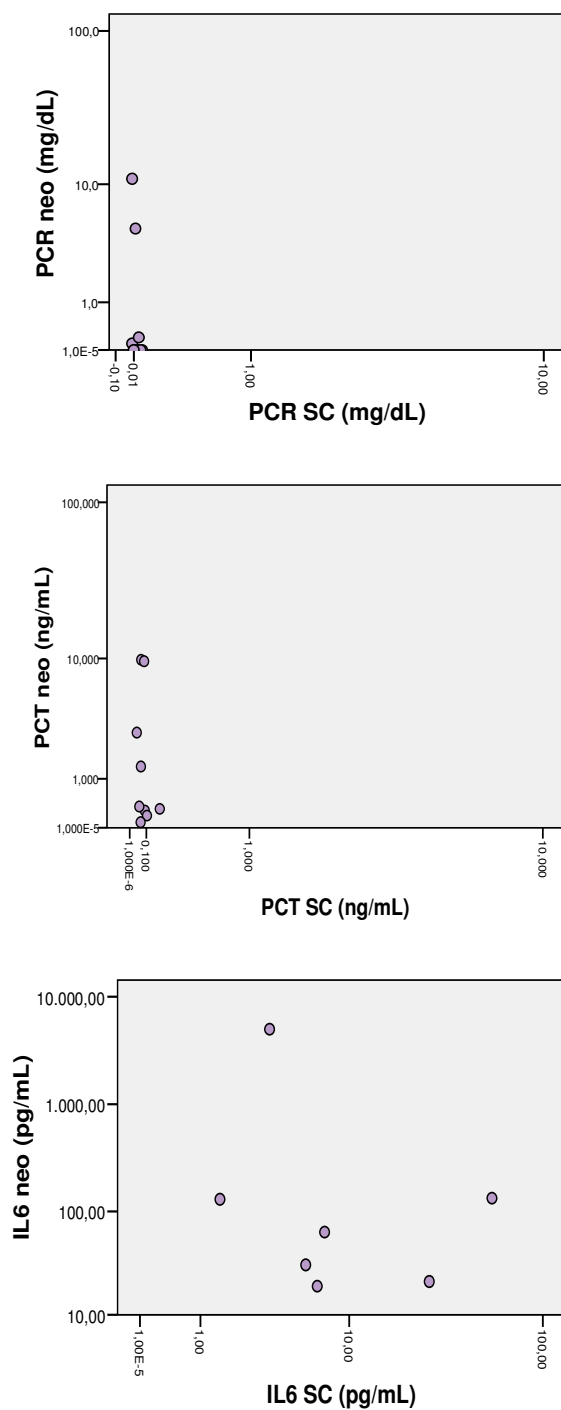
Grupo 4: Neonatos prematuros

Figura 13. Gráficas de nube de puntos entre los marcadores bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida y en sangre de cordón en el Grupo 4.



Grupo 5: Sepsis neonatal precoz

Figura 14. Gráficas de nube de puntos entre marcadores bioquímicos en sangre del neonato en las primeras 24 horas de vida y en sangre de cordón en el Grupo 5.



4.2.3. Influencia de los factores de riesgo infeccioso sobre los marcadores de sepsis:

Se realizó un análisis univariante para estudiar la influencia de los factores de riesgo sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en cada uno de los grupos de estudio, como se observa en las siguientes tablas.

1- Influencia de la Rotura de Membranas materna:

Tabla 51. Influencia de la Rotura de membranas materna (horas) sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en los cinco grupos de estudio, mediante la prueba de *Kruskal-Wallis*.

Grupo 1 (Estudio en Maternidad):

	PCR			PCT			IL-6		
Rotura de membranas	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24
N	125	26	20	125	26	20	125	26	20
Media $\pm$ SD	0,0347 $\pm$ 0,243 mg/dL			0,131 $\pm$ 0,427 ng/mL			17,159 $\pm$ 95,377 pg/mL		
Rango promedio	86,84	84,85	82,25	84,49	90,27	89,88	80,55	103,42	97,4
Chi-cuadrado	0,187			0,432			5,833		
gl*	2			2			2		
p	0,911			0,806			0,054		

gl*: grados de libertad.

Al realizar la prueba de Chi-cuadrado entre el Grupo 1 y el Grupo 2 de todos los subgrupos de la variable rotura de membranas, se obtuvieron los valores:

$$\text{Chi-cuadrado de Pearson} = 0,945$$

$$p = 0,623$$

Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección):

	PCR			PCT			IL-6		
Rotura de membranas	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24
N	32	7	8	32	7	8	32	7	8
Media ± SD	0,1119 ± 0,379 mg/dL			0,621 ± 2,895 ng/mL			758,78 ± 1465,6 pg/mL		
Rango promedio	24,69	25,93	19,56	21,47	25,57	32,75	23,28	20,57	29,88
Chi-cuadrado	1,156			4,443			1,995		
gl*	2			2			2		
p	0,561			0,108			0,369		

gl*: grados de libertad.

Grupo 3 (Ingreso por otros motivos):

	PCR			PCT			IL-6		
Rotura de membranas	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24
N	52	8	2	52	8	2	52	8	2
Media ± SD	0,0691 ± 0,289 mg/dL			0,646 ± 4,467 ng/mL			280,62 ± 1033,06 pg/mL		
Rango promedio	31,46	30,06	38,25	31,88	21,25	33	29	28,94	43,75
Chi-cuadrado	0,375			2,598			1,476		
gl*	2			2			2		
p	0,829			0,273			0,478		

gl*: grados de libertad.

Grupo 4 (Neonatos prematuros):

	PCR			PCT			IL-6		
Rotura de membranas	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24
N	164	18	29	157	18	28	156	17	27
Media $\pm$ SD	0,0326 $\pm$ 0,111 mg/dL			0,127 $\pm$ 0,320 ng/mL			85,33 $\pm$ 529,21 pg/mL		
Rango promedio	108,4	89,1	103,1	101,2	110,1	101,1	95,4	110,7	123,6
Chi-cuadrado	1,764			0,377			6,065		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,414			0,828			0,048		

gl*: grados de libertad.

Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz):

	PCR			PCT			IL-6		
Rotura de membranas	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24
N	7	1	1	7	1	1	7	1	1
Media $\pm$ SD	0,025 $\pm$ 0,021 mg/dL			0,080 $\pm$ 0,043 ng/mL			14,351 $\pm$ 16,51 pg/mL		
Rango promedio	4,57	9	4	4,43	8	6	5,14	5	4
Chi-cuadrado	2,479			1,638			0,152		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,289			0,441			0,927		

gl*: grados de libertad.

Tabla 52. Influencia de la Rotura de membranas materna (horas) sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en la población total del estudio, mediante la prueba de *Kruskal-Wallis*.

	PCR			PCT			IL-6		
Rotura de membranas	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24	<12	12-24	>24
N	380	60	60	371	60	59	368	59	58
Media $\pm$ SD	0,0456 $\pm$ 0,223 mg/dL			0,245 $\pm$ 1,898 ng/mL			152,43 $\pm$ 714,37 pg/mL		
Rango promedio	253,9	236,7	242,9	240,7	253,2	268,0	230,9	264,4	297,8
Chi-cuadrado	0,998			2,105			12,973		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,607			0,349			0,002		

gl*: grados de libertad.

En resumen, la rotura de membranas materna anterior al parto influye de manera significativa en la IL-6 en la población total de estudio, y en este mismo marcador en el grupo de neonatos pretérmino cuando se estudian los grupos de estudio por separado.

2- Influencia del SGB materno:

Tabla 53. Influencia del SGB materno (positivo o negativo) sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en los cinco grupos de estudio, mediante la prueba de *U de Mann-Whitney*.

Grupo 1 (Estudio en Maternidad):

	PCR		PCT		IL-6	
SGB materno	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+
N	107	62	107	62	107	62
Media $\pm$ SD	0,0347 $\pm$ 0,243 mg/dL		0,131 $\pm$ 0,427 ng/mL		17,159 $\pm$ 95,38 pg/mL	
Rango promedio	86,32	82,73	81,4	91,22	87,84	80,1
<i>U de Mann-Whitney</i>	3176		2931		3013	
W de Wilcoxon	5129		8709		4966	
Z	-0,492		-1,258		-0,996	
p	0,623		0,209		0,319	

Al realizar la prueba de Chi-cuadrado entre el Grupo 1 y el Grupo 2 de todos los subgrupos de la variable SGB materno, se obtuvieron los valores:

$$\text{Chi-cuadrado de Pearson} = 0,483$$

$$p = 0,487$$

Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección):

	PCR		PCT		IL-6	
SGB materno	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+
N	35	16	35	16	35	16
Media $\pm$ SD	0,1119 $\pm$ 0,379 mg/dL		0,621 $\pm$ 2,895 ng/mL		758,78 $\pm$ 1465,6 pg/mL	
Rango promedio	28,13	21,34	28,17	21,25	29,91	17,44
<i>U de Mann-Whitney</i>	205,5		204		143	
<i>W de Wilcoxon</i>	341,5		340		279	
<i>Z</i>	-1,628		-1,543		-2,782	
<i>p</i>	0,104		0,123		0,005	

Grupo 3 (Ingreso por otros motivos):

	PCR		PCT		IL-6	
SGB materno	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+
N	49	15	48	14	46	14
Media $\pm$ SD	0,0691 $\pm$ 0,289 mg/dL		0,646 $\pm$ 4,467 ng/mL		280,62 $\pm$ 1033,1 pg/mL	
Rango promedio	32,47	32,6	31,46	31,64	29,58	33,54
<i>U de Mann-Whitney</i>	366		334		279,5	
<i>W de Wilcoxon</i>	1591		1510		1360,5	
<i>Z</i>	-0,025		-0,034		-0,743	
<i>p</i>	0,980		0,973		0,458	

Grupo 4 (Neonatos prematuros):

	PCR		PCT		IL-6	
SGB materno	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+
N	111	19	106	18	103	19
Media $\pm$ SD	0,0326 $\pm$ 0,111 mg/dL		0,127 $\pm$ 0,320 ng/mL		85,33 $\pm$ 529,21 pg/mL	
Rango promedio	63,10	79,50	62,72	61,22	61,83	59,68
<i>U de Mann-Whitney</i>	788,5		931		944	
<i>W de Wilcoxon</i>	7004,5		1102		1134	
Z	-1,795		-0,163		-0,244	
p	0,073		0,870		0,807	

Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz):

	PCR		PCT		IL-6	
SGB materno	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+
N	4	2	4	2	4	2
Media $\pm$ SD	0,025 $\pm$ 0,021mg/dL		0,080 $\pm$ 0,043 ng/mL		14,351 $\pm$ 16,51 pg/mL	
Rango promedio	3	4,5	4	2,5	2,5	5,5
<i>U de Mann-Whitney</i>	2		2		0	
<i>W de Wilcoxon</i>	12		5		10	
Z	-0,926		-0,926		-1,852	
p	0,355		0,355		0,064	

Tabla 54. Influencia del SGB materno (positivo o negativo) sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en la población total del estudio, mediante la prueba de *U de Mann-Whitney*.

	PCR		PCT		IL-6	
SGB materno	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+	SGB-	SGB+
N	306	114	306	114	306	114
Media $\pm$ SD	0,069 $\pm$ 0,289 mg/dL		0,646 $\pm$ 4,467 ng/mL		280,6 $\pm$ 1033,1 pg/mL	
Rango promedio	213,5	202,45	206,08	207,63	212,2	184,5
<i>U de Mann-Whitney</i>	16524,5		16674		14405	
W de Wilcoxon	23079,5		61824		20846	
Z	-0,868		-0,117		-2,125	
p	0,386		0,907		0,034	

En resumen, el test de SGB materno realizado las semanas previas al parto se asocia a diferencias significativas en los valores de IL-6 en la población total y en el grupo de neonatos con sospecha de infección, cuando se evalúan los grupos de estudio por separado.

3- Influencia de la Temperatura materna intraparto:

Tabla 55. Influencia de la temperatura materna intraparto (°C) sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en los cinco grupos de estudio, mediante la prueba de *U de Mann-Whitney*.

Grupo 1 (Estudio en Maternidad):

	PCR		PCT		IL-6	
Tª madre (°C)	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5
N	156	15	156	15	156	15
Media ± SD	0,0347 ± 0,243 mg/dL		0,131 ± 0,427 ng/mL		17,159 ± 95,38 pg/mL	
Rango promedio	86,88	76,9	84,99	96,53	84,91	97,37
<i>U de Mann-Whitney</i>	1033,5		1012		999,5	
W de Wilcoxon	1153,5		13258		13245,5	
Z	-0,794		-0,863		-0,934	
p	0,427		0,388		0,350	

Al realizar la prueba de Chi-cuadrado entre el Grupo 1 y el Grupo 2 de todos los subgrupos de la variable Temperatura materna intraparto, se obtuvieron los valores:

$$\text{Chi-cuadrado de Pearson} = 17,309$$

$$p = \mathbf{0,000}$$

Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección):

	PCR		PCT		IL-6	
Tª madre (°C)	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5
N	34	16	34	16	34	16
Media ± SD	0,1119 ± 0,379 mg/dL		0,621 ± 2,895 ng/mL		758,8 ± 1465,6 pg/mL	
Rango promedio	25,71	25,06	23,16	30,47	22,62	31,63
U de Mann-Whitney	265		192,5		174	
W de Wilcoxon	401		787,5		769	
Z	-0,154		-1,654		-2,039	
p	0,878		0,098		0,041	

Grupo 3 (Ingreso por otros motivos):

	PCR		PCT		IL-6	
Tª madre (°C)	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5
N	62	5	60	5	58	5
Media ± SD	0,0691 ± 0,289 mg/dL		0,646 ± 4,467 ng/mL		280,6 ± 1033,1 pg/mL	
Rango promedio	34,38	29,3	32,38	40,4	31,38	42,2
U de Mann-Whitney	131,5		113		94	
W de Wilcoxon	146,5		1943		1805	
Z	-0,599		-0,911		-1,297	
p	0,549		0,362		0,195	

Grupo 4 (Neonatos prematuros):

	PCR		PCT		IL-6	
Tª madre (°C)	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5
N	213	8	213	8	213	8
Media ± SD	0,0326 ± 0,111 mg/dL		0,127 ± 0,320 ng/mL		85,33 ± 529,21 pg/mL	
Rango promedio	110,52	123,81	106,25	113,71	105,41	91,17
<i>U de Mann-Whitney</i>	749,5		667		526	
<i>W de Wilcoxon</i>	23540,5		21782		547	
Z	-0,591		-0,316		-0,569	
p	0,555		0,752		0,569	

Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz):

	PCR		PCT		IL-6	
Tª madre (°C)	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5
N	6	3	6	3	6	3
Media ± SD	0,025 ± 0,021 mg/dL		0,080 ± 0,043 ng/mL		14,351 ± 16,51 pg/mL	
Rango promedio	5,08	4,83	4,33	6,33	5,83	3,33
<i>U de Mann-Whitney</i>	8,5		5		4	
<i>W de Wilcoxon</i>	14,5		26		10	
Z	-0,13		-1,033		-1,291	
p	0,896		0,302		0,197	

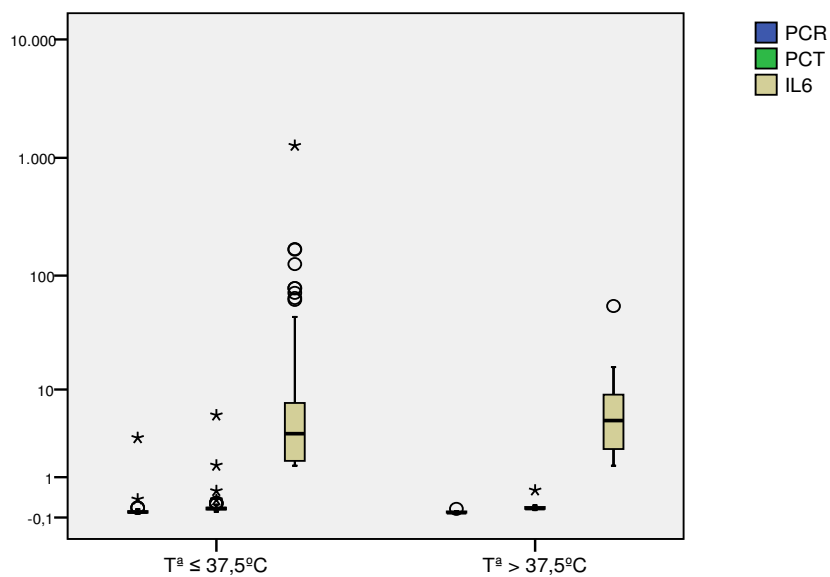
Tabla 56. Influencia de la temperatura materna intraparto (°C) sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en la población total del estudio, mediante la prueba de *U de Mann-Whitney*.

	PCR		PCT		IL-6	
Tª madre (°C)	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5	≤37,5	>37,5
N	471	47	461	46	457	45
Media ± SD	0,0326 ± 0,111 mg/mL		0,127 ± 0,320 ng/mL		85,33 ± 529,21 pg/mL	
Rango promedio	260,82	246,29	248,55	308,58	246,12	306,17
<i>U de Mann-Whitney</i>	10447,5		8092,5		7822,5	
W de Wilcoxon	11575,5		114583,5		112475,5	
Z	-0,659		-2,65		-2,653	
p	0,510		0,008		0,008	

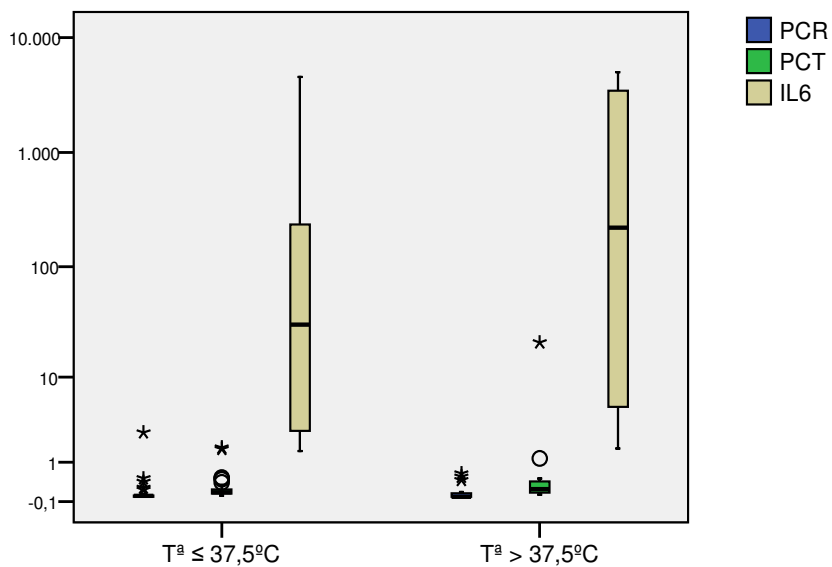
En resumen, la temperatura materna intraparto al parto influye de manera significativa en la IL-6 y en la PCT en la población total de estudio, y únicamente en la IL-6 en el grupo de neonatos con sospecha de infección cuando se estudian los grupos de estudio por separado.

Figura 15. Distribución de los marcadores bioquímicos de sepsis (PCR, PCT e IL-6) en sangre de cordón en función de la temperatura materna intraparto por grupos de estudio.

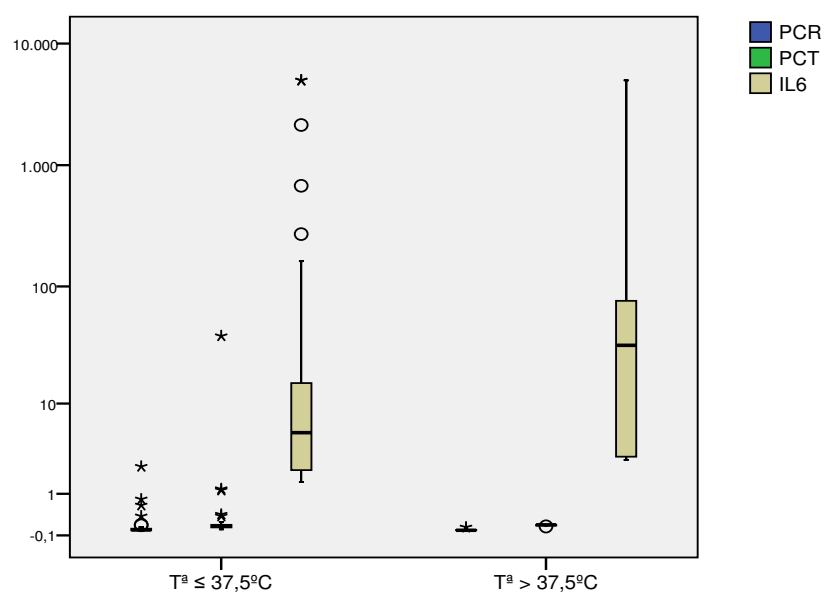
Grupo 1: Estudio en Maternidad



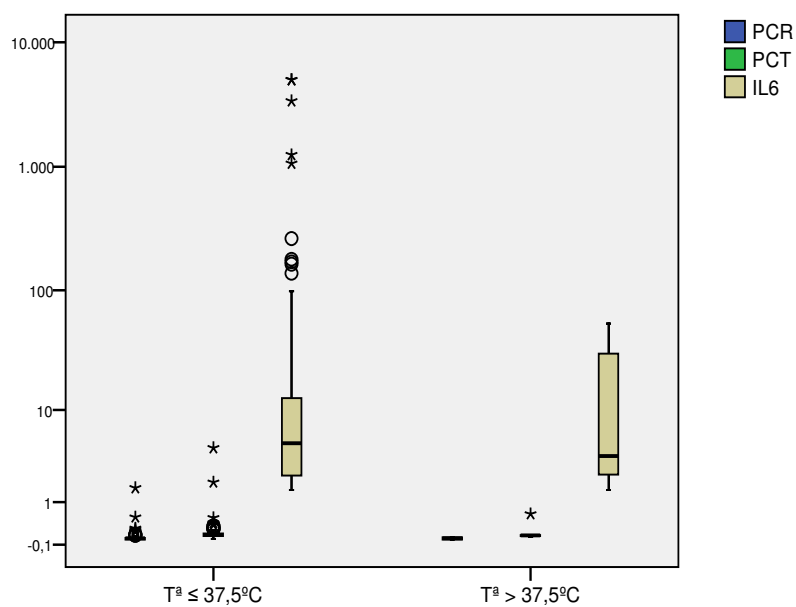
Grupo 2: Ingreso por sospecha de infección

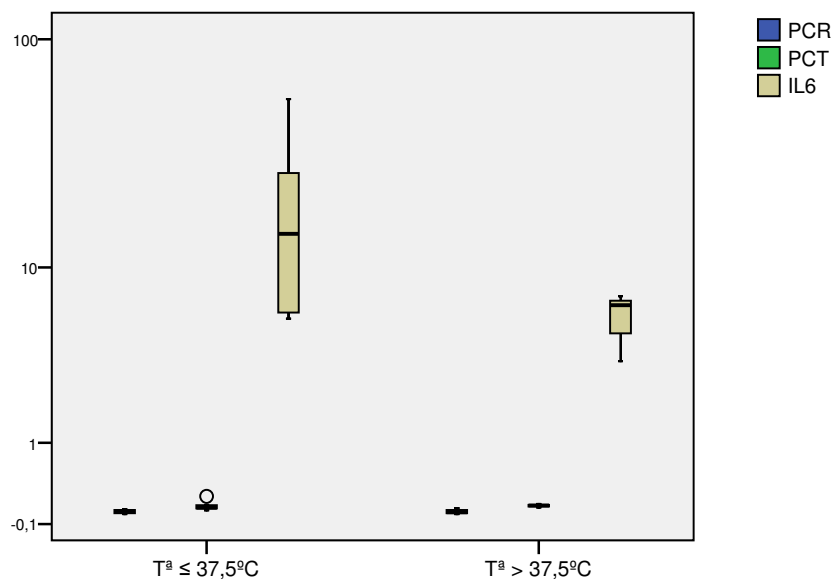


Grupo 3: Ingreso por otros motivos



Grupo 4: Neonatos prematuros



Grupo 5: Sepsis neonatal precoz

4- Influencia de la anestesia utilizada en el parto:

Tabla 57. Influencia de la anestesia utilizada en el parto sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en los cinco grupos de estudio, mediante la prueba de *Kruskal-Wallis*, (*Ep*: epidural, *Raq*: raquídea, *Otr/N*: otras/ninguna).

Grupo 1 (Estudio en Maternidad):

	PCR			PCT			IL-6		
Tipo anestesia	<i>Ep</i>	<i>Raq</i>	<i>Otr/N</i>	<i>Ep</i>	<i>Raq</i>	<i>Otr/N</i>	<i>Ep</i>	<i>Raq</i>	<i>Otr/N</i>
N	131	16	37	131	16	37	131	16	37
Media ± SD	0,0347 ± 0,243 mg/dL			0,131 ± 0,427 ng/mL			17,159 ± 95,38 pg/mL		
Rango promedio	91,91	98,94	91,8	97,4	89,7	76,4	95	63,6	96,1
Chi-cuadrado	0,29			4,561			5,212		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,865			0,102			0,074		

gl*: grados de libertad.

Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección):

	PCR			PCT			IL-6		
Tipo anestesia	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N
N	45	2	6	45	2	6	45	2	6
Media $\pm$ SD	0,1119 $\pm$ 0,379 mg/dL			0,621 $\pm$ 2,895 ng/mL			758,8 $\pm$ 1465,6 pg/mL		
Rango promedio	28,13	30,25	17,42	27,6	32,75	20,58	28	40,5	15
Chi-cuadrado	3,016			1,382			5,341		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,221			0,501			0,069		

gl*: grados de libertad.

Grupo 3 (Ingreso por otros motivos):

	PCR			PCT			IL-6		
Tipo anestesia	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N
N	41	11	24	40	10	24	40	10	22
Media $\pm$ SD	0,0691 $\pm$ 0,289 mg/dL			0,646 $\pm$ 4,467 ng/mL			280,6 $\pm$ 1033,1 pg/mL		
Rango promedio	39,23	54	30,15	35,55	45,25	37,52	35,03	37	38,85
Chi-cuadrado	10,325			1,628			0,507		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,006			0,443			0,776		

gl*: grados de libertad.

Grupo 4 (Neonatos prematuros):

	PCR			PCT			IL-6		
Tipo anestesia	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N
N	121	80	37	118	73	37	114	75	36
Media $\pm$ SD	0,0326 $\pm$ 0,111 mg/dL			0,127 $\pm$ 0,320 ng/mL			85,33 $\pm$ 529,21 pg/mL		
Rango promedio	127,9	117,5	96,54	118,9	109,5	110,3	110,6	115,1	116,4
Chi-cuadrado	6,254			1,094			0,338		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,044			0,579			0,845		

gl*: grados de libertad.

Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz):

	PCR			PCT			IL-6		
Tipo anestesia	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N
N	7	1	2	7	1	2	7	1	2
Media $\pm$ SD	0,025 $\pm$ 0,021 mg/dL			0,080 $\pm$ 0,043 ng/mL			14,351 $\pm$ 16,51 pg/mL		
Rango promedio	5,93	3,5	5	6,29	1	5	5,43	7	5
Chi-cuadrado	0,643			2,735			0,304		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,725			0,255			0,859		

gl*: grados de libertad.

Tabla 58. Influencia de la anestesia utilizada en el parto sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en la población total del estudio, mediante la prueba de *Kruskal-Wallis*.

	PCR			PCT			IL-6		
Tipo anestesia	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N	Ep	Raq	Otr/N
N	345	110	106	341	102	106	337	104	103
Media $\pm$ SD	0,025 $\pm$ 0,021 mg/dL			0,080 $\pm$ 0,043 ng/mL			14,351 $\pm$ 16,51 pg/mL		
Rango promedio	287,1	306,4	234,9	285,7	265,4	249,7	275,9	265,9	267,9
Chi-cuadrado	12,704			4,634			0,423		
gl*	2			2			2		
<i>p</i>	0,002			0,099			0,809		

gl*: grados de libertad.

En resumen, el tipo de anestesia utilizada en el parto influye de manera significativa en la PCR en la población total de estudio, y en este mismo marcador en el grupo de neonatos que ingresaron en la Unidad de Neonatología por otros motivos al de sospecha de infección y en el grupo de neonatos prematuros, cuando se estudian los grupos de estudio por separado.

5- Influencia del APGAR 1:

Tabla 59. Influencia del APGAR 1 sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en los cinco grupos de estudio, mediante la prueba *U de Mann-Whitney*.

Grupo 3 (Ingreso por otros motivos):

	PCR		PCT		IL-6	
APGAR 1	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5
N	4	70	4	68	4	66
Rango promedio	40,88	37,31	43,50	36,09	38,50	35,32
<i>U de Mann-Whitney</i>	126,5		108		120	
W de Wilcoxon	2611,5		2454		2331	
Z	-0,349		-0,688		-0,304	
p	0,726		0,491		0,761	

Grupo 4 (Neonatos prematuros):

	PCR		PCT		IL-6	
APGAR 1	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5
N	2	234	2	224	2	221
Rango promedio	35	119,21	173	112,97	219,5	111,03
<i>U de Mann-Whitney</i>	67		105		6	
W de Wilcoxon	70		25305		24537	
Z	-1,776		-1,293		-2,369	
p	0,076		0,196		0,018	

Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz):

	PCR		PCT		IL-6	
APGAR 1	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5
N	1	9	1	9	1	9
Rango promedio	5	5,56	7	5,33	5	5,56
<i>U de Mann-Whitney</i>	4		3		4	
<i>W de Wilcoxon</i>	5		48		5	
Z	-0,176		-0,522		-0,174	
<i>p</i>	0,861		0,602		0,862	

Tabla 60. Influencia del APGAR 1 sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en la población total del estudio, mediante la prueba *U de Mann-Whitney*.

	PCR		PCT		IL-6	
APGAR 1	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5
N	7	544	7	544	7	544
Rango promedio	240,07	276,46	338,79	269,09	368,21	266,16
<i>U de Mann-Whitney</i>	1652,5		1380,5		1139,5	
<i>W de Wilcoxon</i>	1680,5		143158,5		140267,5	
Z	-0,624		1,176		-1,741	
<i>p</i>	0,532		0,239		0,082	

En resumen, el test APGAR realizado en el primer minuto de vida del recién nacido influye de manera significativa en la IL-6 en el grupo de neonatos prematuros cuando se estudian los grupos de estudio por separado, no observándose diferencias en los demás casos.

6- Influencia del APGAR 5:

Tabla 61. Influencia del APGAR 5 sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón en los cinco grupos de estudio, mediante la prueba *U de Mann-Whitney*.

Grupo 3 (Ingreso por otros motivos):

	PCR		PCT		IL-6	
APGAR 5	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5	≤ 5	> 5
N	1	73	1	71	1	69
Rango promedio	68	37,08	61	36,15	3	35,9
<i>U de Mann-Whitney</i>	6		11		2	
W de Wilcoxon	2707		2567		3	
Z	-1,548		-1,179		-1,609	
p	0,122		0,238		0,108	

En este caso, no se observa influencia del test APGAR realizado a los cinco minutos de vida del recién nacido ni en la población en general, ni en ninguno de los grupos de estudio.

4.2.5. Estudio analítico de los resultados del *Septifast*:

Las técnicas de biología molecular se realizaron en muestras de sangre de cordón en determinados neonatos, exceptuando en el Grupo 1, como ya comentamos al comienzo de este capítulo.

Tanto la positividad de los resultados obtenidos en cada grupo de estudio, como la coincidencia de éstos con los resultados microbiológicos hallados mediante hemocultivo, se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 62. Positividad de los resultados del *Septifast*, clasificada por grupos de estudio, expresado en porcentaje del total de cada grupo.

<i>Septifast</i> positivo	Porcentaje (%)
Grupo 2 (N = 50)	30
Grupo 3 (N = 58)	10,3
Grupo 4 (N = 78)	12,8
Grupo 5 (N = 10)	40

Tabla 63. Tabla de contingencia de los resultados del *Septifast* y de los hemocultivos, clasificada por grupos de estudio (N, número de casos y %, porcentaje de los resultados del *Septifast*).

	Población	Hemocultivo negativo	Hemocultivo positivo	Total
<i>Septifast</i> negativo	N	145	11	156
	%	92,9	7,1	100
<i>Septifast</i> positivo	N	38	2	40
	%	95	5	100
Total	N	183	13	196
	%	93,4	6,6	100

A continuación, los resultados de estas técnicas de cada uno de los grupos se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 64. Resultados del estudio del *Septifast* en el Grupo 2 (Ingreso por sospecha de infección): estudio descriptivo y relación entre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón y el *Septifast*, aplicando la prueba *U* de Mann-Whitney.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N casos	Porcentaje válido %
Negativo	34	64,2
<i>Staphilococcus aureus</i>	1	1,9
<i>Staphilococcus spp.</i>	1	1,9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3,8
<i>Escherichia coli</i>	2	3,8
<i>E.coli/Pseud.aer/Sten.malt</i>	2	3,8
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	2	3,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,9
Probable Gram+	3	5,7
Probable Gram-	1	1,9
Total	50	100

Variables cuantitativas	<i>Septifast</i>	N	Rango promedio	U	W	Z	p
PCR	NEG	34	26,50	238	374	-0,765	0,444
	POS	16	23,38				
PCT	NEG	34	25,86	259,5	395,5	-0,260	0,795
	POS	16	24,72				
IL-6	NEG	34	26,24	247	383	-0,520	0,603
	POS	16	23,94				

U: *U* de Mann-Whitney, W: *W* de Wilcoxon.

Tabla 65. Resultados del estudio del *Septifast* en el Grupo 3 (Ingreso por otros motivos): Estudio descriptivo y relación entre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón y *Septifast*, aplicando la prueba *U de Mann-Whitney*.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N casos	Porcentaje válido %
Negativo	50	65,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1,7
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	3	5,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2,6
Probable Gram+	2	2,6
Total	58	100

Variables cuantitativas	<i>Septifast</i>	N	Rango promedio	U	W	Z	p
PCR	NEG	50	28,76	163	1438	-0,916	0,360
	POS	8	34,13				
PCT	NEG	50	27,22	130,5	1306,5	-1,440	0,150
	POS	8	36,19				
IL-6	NEG	50	26,45	115	1243	-1,275	0,202
	POS	8	34,57				

U: *U de Mann-Whitney*, W: *W de Wilcoxon*.

Tabla 66. Resultados del estudio del *Septifast* en el Grupo 4 (Neonatos prematuros): Estudio descriptivo y relación entre los biomarcadores de sepsis en sangre de cordón y el *Septifast*, aplicando la prueba *U de Mann-Whitney*.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N casos	Porcentaje válido %
Negativo	66	84,7
<i>Staphilococcus aureus</i>	2	2,6
<i>Staphilococcus spp.</i>	1	1,3
<i>Escherichia coli</i>	1	1,3
<i>E.coli/Pseud.aer/Sten.malt</i>	1	1,3
<i>Serratia/Steno/Enterob/Klebs/Proteus</i>	2	2,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,4
Probable Gram+	4	1,7
Total	78	100

Variables cuantitativas	Septifast	N	Rango promedio	U	W	Z	p
PCR	NEG	66	40,39	337,5	415,5	-0,865	0,387
	POS	12	34,63				
PCT	NEG	66	38,88	360	438	-0,342	0,732
	POS	12	36,50				
IL-6	NEG	66	36,78	301	2317	-1,114	0,265
	POS	12	44,42				

U: U de Mann-Whitney, W: W de Wilcoxon.

Tabla 67. Resultados del estudio del *Septifast* en el Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz): Estudio descriptivo y relación entre los biomarcadores de sepsis en sangre de cordón y el *Septifast*, aplicando la prueba U de Mann-Whitney.

SEPTIFAST en sangre de cordón	N casos	Porcentaje válido %
Negativo	6	60
<i>Staphilococcus spp</i>	1	10
<i>Pseud aeruginosa</i>	1	10
<i>Candida albicans</i>	1	10
Probable Gram+	1	10
Total	10	100

Variables cuantitativas	Septifast	N	Rango promedio	U	W	Z	p
PCR	NEG	6	6,75	4,5	14,5	-1,614	0,107
	POS	4	3,63				
PCT	NEG	6	4,50	6,0	27,0	-1,279	0,201
	POS	4	7,00				
IL-6	NEG	6	6,17	8,0	18,0	-0,853	0,394
	POS	4	4,50				

U: U de Mann-Whitney, W: W de Wilcoxon.

4.2.5. Evolución de los *outliers* de los marcadores de sepsis:

A continuación, se ha realizado un estudio descriptivo de los casos de los valores más elevados de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón (*outliers*), utilizando para ello puntos de corte establecidos a partir del percentil 90 de la población total de estudio.

Los puntos de corte de los marcadores de sepsis en sangre de cordón a partir de los cuales se realizó este estudio fueron los siguientes:

- PCR (p_{90}) = 0,05 mg/dL
- PCT (p_{90}) = 0,175 ng/mL
- IL-6 (p_{90}) = 71,3 pg/mL

Por lo tanto, en las siguientes tablas se detallan los valores medios (mínimo y máximo) de estos marcadores, los resultados de los hemocultivos y de las técnicas de biología molecular, además de los principales factores de riesgo infeccioso, clasificados por grupos de estudio.

Tabla 68. Descriptivo de los *outliers* de los marcadores de sepsis por grupos de estudio.

Grupo 1: Estudio en Maternidad (N=1)

En el Grupo sólo se encontró un paciente con valores de los marcadores bioquímicos de sepsis elevados por encima del percentil 90, cuyos valores en sangre de cordón fueron:

PCR = 0,0 mg/dL

PCT = 0,114 ng/mL

IL-6 = 1267 pg/mL

Puesto que en este grupo no se realizaron hemocultivo ni técnicas de biología molecular no se tienen datos de este neonato.

Además, este sujeto no tenía antecedentes de rotura prematura de membranas, fiebre materna intraparto o test de SGB materno positivo.

Grupo 2: Ingreso por sospecha de infección (N= 8)

	Media	Desviación estándar	E.T. de la media	Mínimo	Máximo
PCR mg/dL	0,655	0,817	0,289	0,10	2,64
PCT ng/mL	3,366	7,214	2,551	0,199	21,16
IL-6 pg/mL	2283,36	2010,37	710,77	148,80	5000

En este grupo se obtuvo 8 hemocultivos negativos, de los cuales 3 pacientes dieron resultados positivos en las técnicas de *Septifast* (*Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*). Además, una de las madres tuvo SGB positivo durante el embarazo, una de ellas con rotura de membranas mayor a 24 horas, y tres de ellas con fiebre intraparto superior a 37,6°C.

Grupo 3: Ingreso por otros motivos (N= 2)

En este grupo, las concentraciones de los marcadores bioquímicos obtenidas en sangre de cordón de estos dos neonatos fueron las siguientes:

PCR = 0,61 y 0,80 mg/dL

PCT = 1,14 y 38,52 ng/mL

IL-6 = 5000 pg/mL (en los dos casos).

Los hemocultivos fueron negativos en los dos casos, pero uno de ellos dio positivo a *Enterococcus spp.* en las técnicas de *Septifast*. De los factores de riesgo, sólo es destacable una madre con rotura de membranas superior a 24 horas.

Grupo 4: Neonatos prematuros (N= 2)

En este grupo, las concentraciones de los marcadores bioquímicos obtenidas en sangre de cordón de estos dos neonatos fueron las siguientes:

PCR = 0,20 y 0,51 mg/dL

PCT = 1,89 y 4,46 ng/mL

IL-6 = 3379 y 5000 pg/mL

En este grupo los dos hemocultivos fueron negativos, pero la sangre de cordón de uno de estos recién nacidos dio positivo en las técnicas de *Septifast* a *Staphilococcus spp.* Sólo una de las madres tuvo SGB positivo durante el embarazo y rotura de membranas superior a 24 horas.

Grupo 5: Sepsis neonatal precoz.

En este grupo no se encontraron *outliers*.

4.3. Análisis multivariante

4.3.1. Regresión lineal múltiple:

A continuación, se ha realizado un análisis multivariante de los principales factores de riesgo previamente estudiados (rotura de membranas, resultado del test del SGB, temperatura materna intraparto, edad de gestación y puntuación APGAR a un minuto de vida del neonato) y la influencia que éstos ejercen en conjunto sobre los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón, tanto en la población en general como en los diferentes grupos de estudio, descrito en las siguientes tablas.

Las variables que no aparecen en las tablas no influyen de ninguna forma en los marcadores bioquímicos de sepsis.

Población total de estudio:

Tabla 69. Regresión lineal múltiple de los principales factores de riesgo sobre la PCT en sangre de cordón en la población total de estudio.

<i>Coefficientes</i>						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	p
		B	Error típico	Beta		
1	(Constante)	-0,103	0,204		-0,507	0,612
	Rotura de membranas	0,271	0,133	0,092	2,031	0,043

(Método: pasos sucesivos)

<i>Variables excluidas</i>						
Modelo	Beta dentro	t	p	Correlación parcial	Estadísticos colinealidad	
1 SGB materno	-0,0316	-0,687	0,492	-0,031	0,971	
Tª intraparto	0,0606	1,329	0,185	0,060	0,987	
APGAR 1	0,0071	0,158	0,875	0,007	0,999	
Edad gestación	0,0581	1,284	0,199	0,058	0,999	

Tabla 70. Regresión lineal múltiple de los principales factores de riesgo sobre la IL-6 en sangre de cordón en la población total de estudio.

<i>Coefficientes</i>						
Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	p	
	B	Error típico	Beta			
1 (Constante)	-9458,81	2269,56		-4,168	0,000	
Tª materna intraparto	262,2	61,823	0,191	4,241	0,000	

(Método: pasos sucesivos)

<i>Variables excluidas</i>						
Modelo	Beta dentro	t	p	Correlación parcial	Estadísticos colinealidad	
1 Rotura de membranas	0,057	1,264	0,207	0,058	0,986	
SGB materno	0,013	0,289	0,772	0,013	0,992	
APGAR 1	-0,023	-0,506	0,613	-0,023	0,998	
Edad gestación	0,016	0,350	0,726	0,016	0,924	

Tanto en el Grupo 1 (Estudio en Maternidad) como en el Grupo 5 (Sepsis neonatal precoz) no se encontró una relación significativa de los marcadores bioquímicos de sepsis respecto a la influencia de los principales factores de riesgo infeccioso.

A continuación, en las siguientes tablas se detallan los grupos restantes.

Grupo 2: Ingreso por sospecha de infección:

Tabla 71. Regresión lineal múltiple de los principales factores de riesgo sobre la IL-6 en sangre de cordón en el Grupo 2.

<i>Coefficientes</i>					
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	
		B	Error típico	Beta	<i>p</i>
1	(Constante)	-31803	10737,3		-2,962 0,005
	T^a materna intraparto	880,241	289,479	0,417	3,041 0,004

(Método: pasos sucesivos)

<i>Variables excluidas</i>					
Modelo		Beta dentro	t	<i>p</i>	Correlación parcial
					Estadísticos colinealidad
1	Rotura de membranas	-0,092	-0,627	0,534	-0,095 0,885
	SGB materno	-0,080	-0,574	0,569	-0,087 0,993
	Edad gestación	-0,029	-0,210	0,835	-0,032 0,999

Grupo 3: Ingreso por otros motivos:

Tabla 72. Regresión lineal múltiple de los principales factores de riesgo sobre la PCT en sangre de cordón en el Grupo 3.

<i>Coefficientes</i>					
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	
		B	Error típico	Beta	<i>p</i>
1	(Constante)	-5,283	1,550		-3,407 0,001
	Rotura de membranas	5,037	1,197	0,487	4,209 0,000

(Método: pasos sucesivos)

<i>Variables excluidas</i>					
Modelo		Beta dentro	t	<i>p</i>	Correlación parcial
1	SGB materno	-0,164	-1,406	0,165	-0,185
	Tª intraparto	-0,002	-0,017	0,986	-0,002
	APGAR 1	-0,019	-0,164	0,870	-0,022
	Edad gestación	0,063	0,540	0,591	0,072

Grupo 4: Neonatos prematuros:

Tabla 73. Regresión lineal múltiple de los principales factores de riesgo sobre la PCT en sangre de cordón en el Grupo 4.

<i>Coefficientes</i>						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	p
		B	Error típico	Beta		
1	(Constante)	1,275	0,476		2,675	0,008
	Edad gestación	-0,033	0,014	-0,168	-2,398	0,017
1	(Constante)	1,036	0,487		2,127	0,035
	Edad gestación	-0,029	0,014	-0,146	-2,085	0,038
	Rotura de membranas	0,069	0,034	0,143	2,043	0,042

(Método: pasos sucesivos)

<i>Variables excluidas</i>						
Modelo		Beta dentro	t	p	Correlación parcial	Estadísticos colinealidad
1	Rotura de membranas	0,143	2,043	0,042	0,144	0,978
	SGB materno	0,033	0,477	0,634	0,034	1,000
	Tª intraparto	0,129	1,832	0,068	0,129	0,966
	APGAR 1	-0,001	-0,015	0,988	-0,001	0,992
	SGB materno	0,070	0,988	0,324	0,070	0,945
	Tª intraparto	0,130	1,860	0,064	0,131	0,966
	APGAR 1	-0,010	-0,148	0,882	-0,011	0,988

Tabla 74. Regresión lineal múltiple de los principales factores de riesgo sobre la IL-6 en sangre de cordón en el Grupo 4.

<i>Coefficientes</i>						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	p
		B	Error típico	Beta		
1	(Constante)	2221,45	785,5		2,828	0,005
	APGAR 1	-1068,95	394,25	-0,190	-2,711	0,007

(Método: pasos sucesivos)

<i>Variables excluidas</i>						
Modelo		Beta dentro	t	p	Correlación parcial	Estadísticos colinealidad
1	Rotura membranas	0,110	1,575	0,117	0,112	0,997
	SGB materno	0,093	-1,312	0,191	0,094	0,983
	Tª intraparto	0,010	-0,146	0,884	0,010	0,996
	Edad gestación	-0,133	-1,905	0,058	-0,135	0,992

4.3.2. Regresión logística:

Por último, para estudiar la probabilidad o riesgo de presentar un valor analítico considerado de riesgo, se ha realizado un análisis de regresión logística, tomando como referencia la *Odds Ratio* ajustada, con un intervalo de confianza del 95%.

Este análisis se realizó en el grupo de sospecha de infección, con los valores de los marcadores de sepsis ya considerados anteriormente por otros autores (71,78): PCR= 0,1 mg/dL, PCT= 0,5 ng/mL y IL-6= 250 pg/mL.

Tabla 75. Constantes y variables de la ecuación (paso 0) de la regresión logística aplicada al Grupo 2 o de sospecha de infección, utilizando los puntos de corte descritos en la bibliografía (N= 53).

Paso 0: Constantes

B	E.T.	Wald	gl	p	Exp (B)
Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior
-2,222	0,145	236,103	1	0,000	0,108

B: beta, E.T.: Error típico, gl: grados de libertad, Exp (B): exponente.

Paso 0: Variables que no están en la ecuación

Variables	Puntuación	gl	p
PCR	18,370	1	0,000
PCT	5,753	1	0,016
IL-6	75,673	1	0,000
Global	81,230	3	0,000

Tabla 76. Variables de la ecuación, modelos y matriz de correlaciones de la regresión logística aplicada al Grupo 2 o de sospecha de infección (paso 1), utilizando los puntos de corte descritos en la bibliografía (N= 53).

Paso 1: Pruebas omnibus sobre los coeficientes del modelo

	Chi-cuadrado	gl	p
Paso	49,445	3	0,000
Bloque	49,445	3	0,000
Modelo	49,445	3	0,000

Paso 1: Resumen de los modelos

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	297,642	0,087	0,184

Paso 1: Variables en la ecuación

	B	E.T.	Wald	gl	p	Exp.(B)	IC.95% para Exp. (B)		
		Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	Inf	Sup	
PCR	1,627	0,653	6,208	1	0,013	5,091	1,415	18,312	
PCT	-1,905	1,008	3,571	1	0,059	0,149	0,021	1,073	
IL-6	2,870	0,455	39,770	1	0,000	17,644	7,231	43,057	
Constante	-5,237	0,785	44,545	1	0,000	0,005			

B: beta, E.T.: Error típico, gl: grados de libertad, Exp (B): exponente.

Paso 1: Matriz de correlaciones

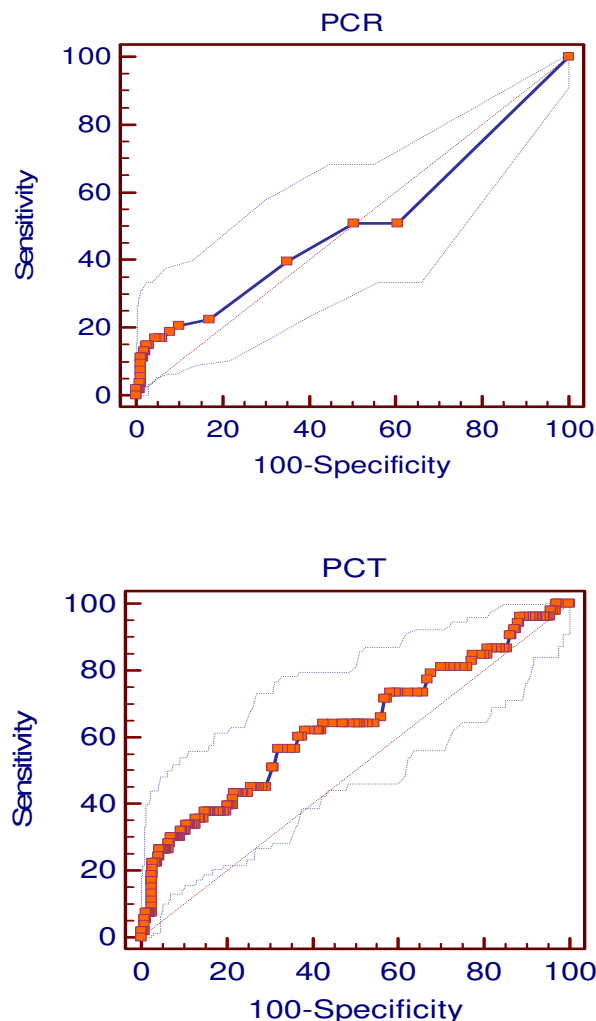
	PCR	PCT	IL-6
PCR	-0,138	-0,513	-0,202
PCT	.	-0,611	0,056
IL-6	.	.	-0,398

4.4. Curvas ROC

En la evaluación de la utilidad clínica de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón se decidió, en un primer paso, realizar un estudio del grupo de neonatos con sospecha de infección (Grupo 2), tomando como referencia el Grupo 1 o de estudio en Maternidad. Para ello, se emplearon las curvas ROC, estudiando la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo para cada marcador, así como el área bajo la curva y los valores de *likelihood ratio* positivo y negativo.

- Grupo 2: Sospecha de infección

Figura 16. Curvas ROC de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón por separado y en conjunto en el Grupo 2 respecto al Grupo 1.



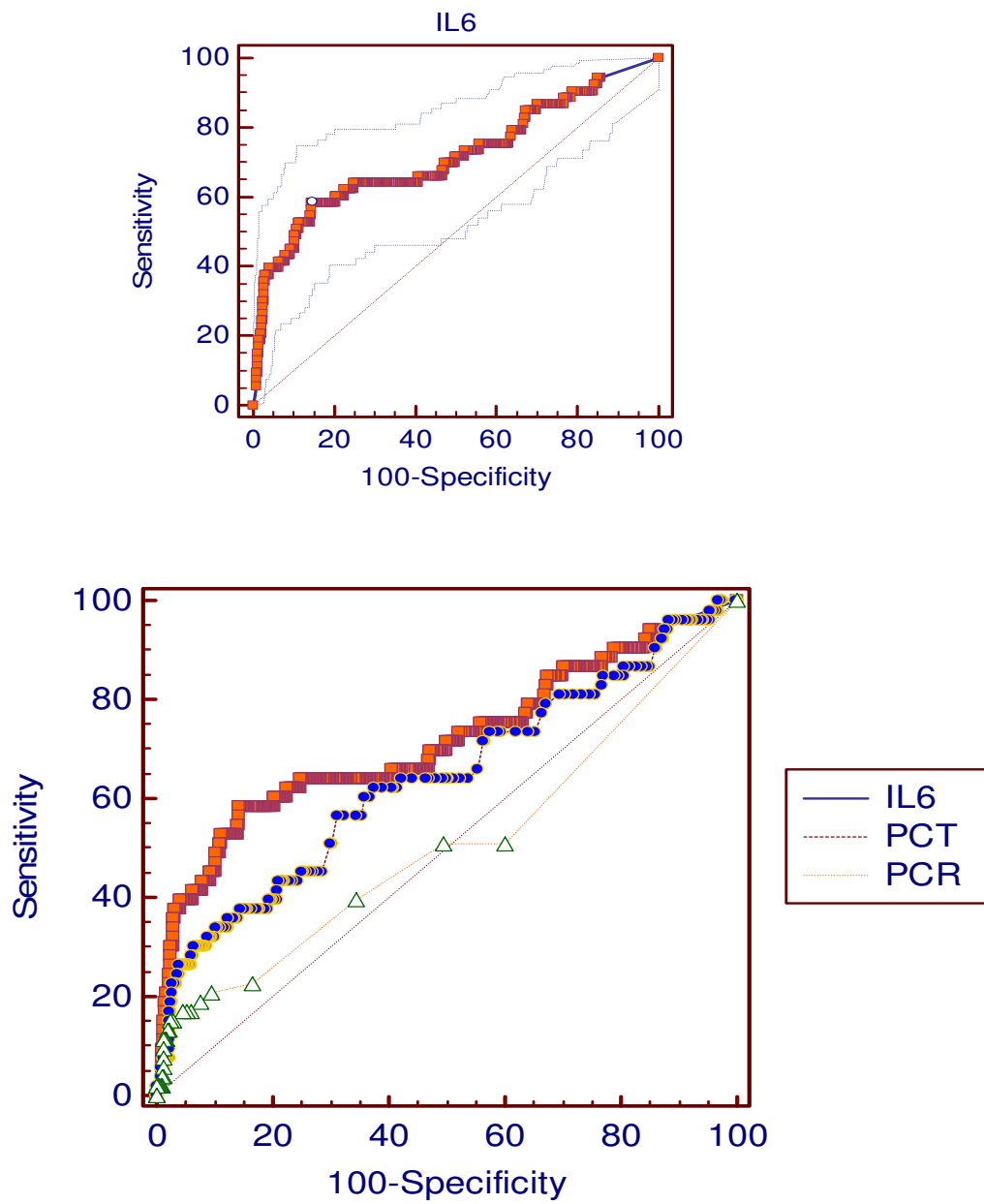


Tabla 77. Puntos de corte y valores de área bajo la curva (AUC), Sensibilidad (S), Especificidad (E), Valor Predictivo Negativo (VPN) y Positivo (VPP) de los marcadores bioquímicos de sepsis en pacientes del Grupo 2 con sospecha de infección, respecto al Grupo 1 de estudio en Maternidad.

	Cut-off	AUC*	S%	E%	VPP%	VPN%
PCR	0,1 mg/dL	0,547	15,9	98,91	80	80,2
PCT	0,136 ng/mL	0,641	37,74	89,67	51,3	83,3
IL-6	22,12 pg/mL	0,754	58,49	92,39	68,9	88,5

***Diferencias de las AUC entre los marcadores bioquímicos de sepsis:**

- PCR-PCT: $p = 0,127$
- PCT- IL-6: $p = 0,020$
- IL-6-PCR: $p < 0,001$

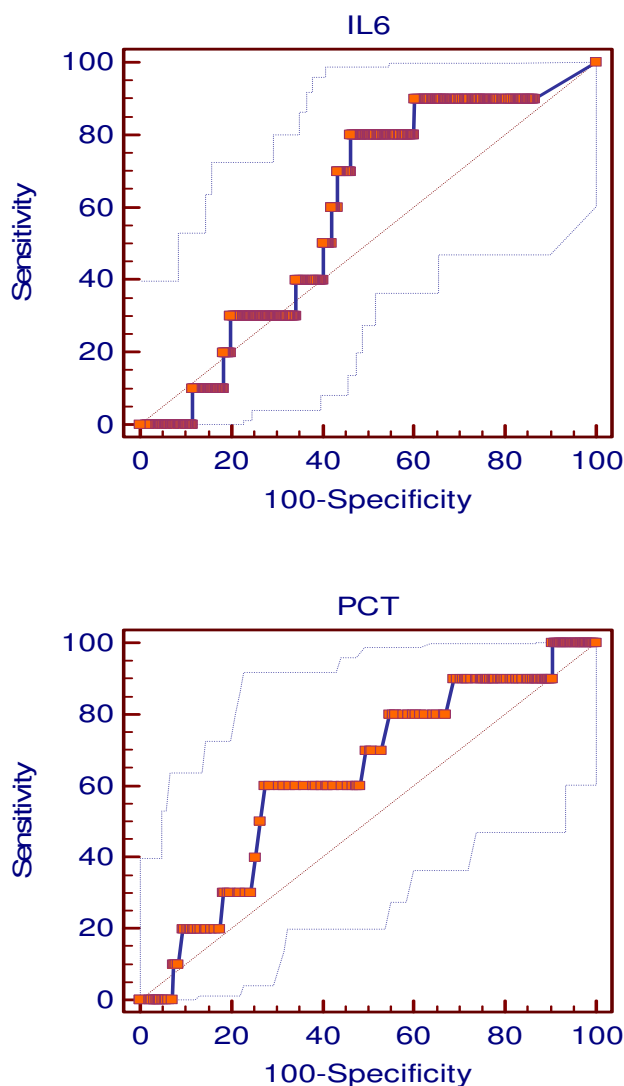
Tabla 78. Valores de *Likelihood ratios* Positivo (LR+) y Negativo (LR-) de los marcadores bioquímicos de sepsis del Grupo 2 con sospecha de infección.

	LR+	IC 95%	LR-	IC 95%
PCR	13,89	(7,3-26,3)	0,86	(0,2-3,4)
PCT	3,65	(2,6-5,2)	0,69	(0,4-1,1)
IL-6	7,69	(6,1-9,7)	0,45	(0,2-0,8)

En un segundo paso, se realizaron estas mismas pruebas en el grupo de neonatos que desarrollaron sepsis neonatal precoz (Grupo 5), respecto al resto de la población de estudio (Grupos 1, 2, 3 y 4). Para ello, se emplearon las curvas ROC, estudiando la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo para cada marcador, así como el área bajo la curva y los valores de *likelihood ratio* positivo y negativo.

Figura 17: Curvas ROC de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón por separado y en conjunto en el Grupo 5 de estudio.

- Grupo 5: Sepsis neonatal precoz



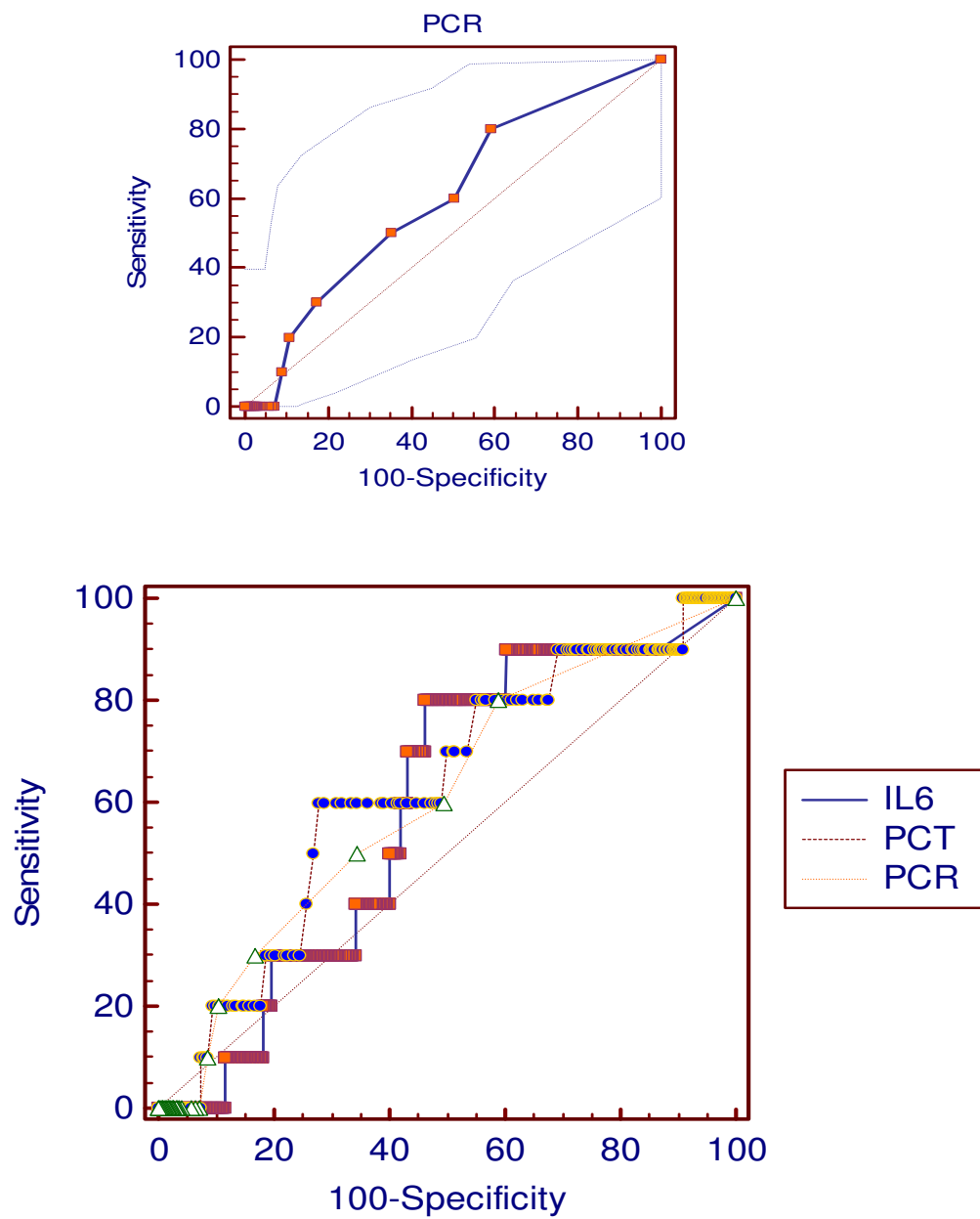


Tabla 79. Puntos de corte y valores de área bajo la curva (AUC), Sensibilidad (S), Especificidad (E), Valor Predictivo Negativo (VPN) y Positivo (VPP) de los marcadores bioquímicos de sepsis en pacientes del Grupo 5 con sepsis neonatal precoz, respecto al resto de la población de estudio.

	Cut-off	AUC*	S%	E%	VPP%	VPN%
PCR	>0,01 mg/dL	0,603	60	49,73	2,1	98,6
PCT	0,067 ng/mL	0,627	60	72,54	3,9	99,0
IL-6	>5,57 pg/mL	0,591	80	53,75	3,1	99,3

*Diferencias de las AUC entre los marcadores bioquímicos de sepsis:

- PCR-PCT: $p = 0,899$
- PCT- IL-6: $p = 0,799$
- IL-6-PCR: $p = 0,828$

Tabla 80. Valores de *likelihood ratios* Positivo (LR+) y Negativo (LR-) de los marcadores bioquímicos de sepsis del Grupo 5 con sepsis neonatal precoz.

	LR+	IC 95%	LR-	IC 95%
PCR	1,19	(0,7-2,0)	0,80	(0,4-1,7)
PCT	2,19	(1,3-3,6)	0,55	(0,3-1,2)
IL-6	1,73	(1,3-2,4)	0,37	(0,1-1,3)

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se pretende evaluar la utilidad de los principales biomarcadores de sepsis en una población de recién nacidos ingresados en la Unidad de Neonatología y/o de Maternidad por diversos motivos, entre los que destaca por su importancia el grupo con sospecha de infección y el grupo con sepsis con o sin confirmación bacteriológica.

Como ya se ha comentado previamente en la introducción, en la sepsis del período neonatal pueden diferenciarse dos grandes cuadros. El que nos ocupa en este trabajo corresponde al de sepsis neonatal precoz, por lo tanto, los casos de neonatos con sepsis neonatal nosocomial o de origen comunitario, es decir, no adquiridas a través del canal del parto, no fueron incluidas en este estudio y, por ello, las referencias a sepsis que se van a comentar a continuación corresponden a la sepsis neonatal precoz.

En este estudio se ha realizado la determinación de los marcadores de sepsis en sangre de cordón, ya que en los protocolos de las unidades de Neonatología se evalúa al recién nacido con sospecha de sepsis en función, principalmente, de la clínica observada en el neonato y, además, en función de los parámetros hematológicos y bioquímicos (PCR) en sangre neonatal en las primeras 24 horas de vida después del nacimiento. Respecto a los parámetros bioquímicos, en una reciente monografía (88), la Sociedad Americana de Pediatría ya no incluye el uso de estos parámetros (PCR o PCT) para la evaluación de sepsis neonatal precoz, utilizando únicamente el resultado microbiológico del hemocultivo al nacimiento y el recuento leucocitario y plaquetar; por lo que consideramos oportuno los objetivos de este estudio, cuya finalidad es anticiparse a un diagnóstico rápido para la consecuente instauración del tratamiento antibiótico adecuado.

En primer lugar, la población de estudio estuvo formada por recién nacidos en nuestro hospital con unas características ya definidas, de ahí la decisión de realizar una clasificación en cinco grupos, no incluyendo aquellos neonatos que no correspondían a ninguno de estos grupos.

La obtención de esta población ha seguido el mismo procedimiento en todos los casos y, por tanto, a pesar de que el denominado Grupo 1, o grupo de recién nacidos a término con estudio en la Unidad de Maternidad, no se consideraban sanos en su totalidad, fue considerado como el grupo de referencia. Se ha establecido así debido a que este grupo, a pesar de su paso por esta unidad y una petición analítica urgente de hemograma y PCR, presentó buen estado general según el criterio del equipo médico y, además, se obtuvieron unos resultados analíticos que confirmaban este estado, en comparación con el resto de grupos incluidos en este estudio, por lo que no precisaron de ingreso hospitalario.

Por otro lado, los recién nacidos prematuros o a término no incluidos en el primer grupo fueron ingresados en la Sección de Neonatología de nuestro hospital por diferentes motivos. De acuerdo a los objetivos principales de este estudio, el Grupo 2 o grupo de neonatos con sospecha de infección con factores de riesgo infeccioso, se consideró un grupo de gran importancia por sus características especiales, que fueron establecidas según el criterio médico pediátrico. A este grupo de pacientes se le administró el correcto tratamiento antibiótico a su ingreso en Neonatología.

Por último, el Grupo 5 o neonatos que desarrollaron sepsis neonatal precoz finalmente consistió en un grupo con un número muy reducido, únicamente con diez pacientes, constituyendo de igual forma uno de los grupos clave de nuestro estudio.

La implantación de los programas de prevención e instauración de profilaxis antibiótica en mujeres embarazadas con factores de riesgo infeccioso puede ser causa de la baja incidencia de sepsis neonatal precoz hallada en nuestro estudio, en comparación con otros trabajos (21).

El escaso número de pacientes incluidos en este último grupo probablemente ha podido influir en los resultados obtenidos, particularmente en los valores de los marcadores bioquímicos de sepsis y en las curvas ROC obtenidas, convirtiéndose en una de las principales limitaciones del estudio. Es por este motivo, por el que se decidió realizar un estudio descriptivo de cada paciente

de este grupo, detallando las características de los factores de riesgo infeccioso, anamnesis, motivo de ingreso y diagnóstico principal, además de los valores de los marcadores de sepsis obtenidos en sangre de cordón, así como el resultado del hemocultivo en cada caso.

Esta clasificación corresponde con la de otros autores, cuyos trabajos establecen varios grupos de estudio de acuerdo a criterios clínicos, biológicos y bacteriológicos. Un ejemplo de esto se refleja en la clasificación de *Joram y cols.* (71), cuyos grupos fueron definidos como recién nacidos infectados (con hemocultivo positivo), recién nacidos colonizados (cuyos cultivos de muestras gástricas fueron positivas, pero sin signos clínicos o bacteriológicos de sepsis), recién nacidos no infectados/no colonizados, y un grupo de recién nacidos sin factores de riesgo infeccioso asociados, considerado como el grupo control.

Otros trabajos (89), simplemente clasifican su población de estudio en dos grupos, donde estudian la sangre de cordón de recién nacidos en función de la presencia o ausencia de factores de riesgo infeccioso.

Una clasificación más próxima a la nuestra sería la realizada por *Cancelier y cols.* (90), donde se estudian dos grupos; uno, donde se incluyen neonatos con sepsis confirmada bacteriológicamente y neonatos con alta probabilidad de sepsis por factores de riesgo de infección asociados, y un segundo grupo considerado como grupo control, o neonatos con factores de riesgo de infección, pero sin desarrollar sepsis neonatal.

Además, en nuestra población también se incluyó un grupo de neonatos que ingresó en la Sección de Neonatología de nuestro hospital por otros motivos, algunos de los cuales fueron taquipnea transitoria, hipoglucemia, asfixia perinatal, cardiopatías, etc.

Se ha considerado éste un grupo de estudio con suficiente importancia para la inclusión en este trabajo, ya que el comportamiento de los marcadores bioquímicos de sepsis en estas patologías todavía no ha sido ampliamente estudiado. Si bien es cierto, existen algunos estudios que valoran otros parámetros (como pueden ser los antropométricos) para predecir diversas

enfermedades neonatales, encontrándose la sepsis neonatal entre una de ellas (91).

Por último, se decidió estudiar un grupo de neonatos prematuros como grupo independiente, al considerarse la prematuridad un factor de riesgo infeccioso por sí mismo, puesto que la inmadurez del sistema inmune de estos niños los hace más susceptibles a contraer infecciones, además de padecer otras patologías, como bien ya han apuntado recientemente varios autores (92).

Una vez establecida la clasificación de los pacientes en los diferentes grupos, es importante comentar la metodología y procedimientos seguidos en este estudio.

La determinación de los parámetros hematológicos y bioquímicos en las muestras obtenidas de los pacientes se realizó mediante métodos y técnicas analíticas en analizadores, cumpliendo la correcta normativa de calidad establecida en análisis clínicos. Concretamente, las técnicas de los marcadores bioquímicos de sepsis (PCR, PCT e IL-6) no superaron coeficientes de variación interensayo del 8,7%, empleando muestras humanas y controles según un protocolo interno para la determinación de la reproducibilidad o precisión, como ya está establecido por la casa comercial *Roche Diagnostics*®.

En cuanto a la recogida de muestras, no hubo inconvenientes respecto a la sangre de cordón, puesto que las muestras procedían del paritorio o quirófano y se procesaban en el laboratorio de Banco de sangre, ubicado en el Servicio de Hematología. Sin embargo, respecto a la sangre del neonato, uno de los principales problemas metodológicos que se encontró en la realización de las mediciones de los parámetros de estudio fue la cantidad de muestra de la que se disponía, puesto que las muestras obtenidas no fueron expresamente extraídas. En su lugar, se recogió la sangre y el suero residual de las muestras de los pacientes a los que se había solicitado analítica de sospecha de infección (hemograma y PCR), sin invadir en ningún momento la integridad del recién nacido.

La elección de emplear nuevas técnicas de biología molecular en este trabajo estuvo motivada principalmente por la novedad que suponía la aplicación de éstas en la práctica clínica, y a la no determinación previa de muestras de sangre de cordón, ya que únicamente existen hasta el momento estudios en sangre total (81;93), como bien comentaremos más adelante.

En cuanto al estudio descriptivo de nuestra población, el sexo de mayor frecuencia de desarrollar sepsis neonatal precoz de los recién nacidos estudiados fue el masculino; ya que, como es sabido, los neonatos de este sexo tienen un riesgo de 2 a 6 veces mayor que el sexo femenino, encontrándose que hasta el 58,9% de las infecciones ocurren en pacientes de sexo masculino (94).

Respecto a los resultados del test de Estreptococo del grupo B realizado a las madres en las últimas semanas de embarazo, en la población total del estudio éstos fueron mayoritariamente negativos, aunque hay que destacar la positividad del 30% en el grupo de sospecha de infección, resultados que coinciden con otros estudios (11), donde los autores establecen este microorganismo como uno de los principales factores de riesgo infeccioso en la sepsis neonatal precoz, a pesar de los programas de prevención ya instaurados en el ámbito obstétrico (48). El resto de grupos de estudio no llegaron al 20% de frecuencia de este resultado positivo.

Del mismo modo, en este grupo de sospecha de infección también se registraron resultados de temperatura materna intraparto superiores a 37,5°C en el 30% de los casos, en contraposición al resto de grupos donde sólo se obtuvieron porcentajes del 6% en el caso del grupo de ingreso en Neonatología por otros motivos o Grupo 3. Esto también ha sido ampliamente estudiado por otros autores (46), que aseguran que la fiebre materna intraparto está fuertemente asociada a la sepsis neonatal precoz.

La rotura prematura de membranas superior a 12 horas, otro de los principales factores de riesgo infeccioso ya descrito en nuestro trabajo, no supuso el mayor porcentaje en nuestra población, pero sí en un número suficientemente elevado en algunos grupos como comentaremos más adelante.

En todos los grupos, el tipo de anestesia empleada mayoritariamente en el parto fue la epidural, oscilando desde un 50 a un 84% en los grupos de estudio, lo que nos va a llevar a estudiar la influencia de este tipo de anestesia (47) en los marcadores bioquímicos en el diagnóstico de la sepsis neonatal precoz, como ya se ha mencionado anteriormente en la introducción.

A continuación, comentaremos los valores de los parámetros hematológicos obtenidos en el estudio descriptivo en los diferentes grupos de estudio, tanto en sangre de cordón como en sangre del neonato.

Las concentraciones de estos parámetros fueron ligeramente elevadas en la sangre del recién nacido respecto a las de la sangre de cordón. En concreto, los valores más elevados del recuento de leucocitos, neutrófilos totales y granulocitos inmaduros en la evaluación de cada uno de los grupos de nuestra población, se encontraron en muestras de sangre de cordón en el grupo de neonatos que ingresaron por sospecha de infección, además de los neonatos pertenecientes al grupo de estudio en Maternidad. Esta heterogeneidad de resultados coincide en cierto modo con otros estudios (77), que evalúan estos parámetros en muestras de sangre de cordón en diferentes grupos, entre los cuales los valores hematológicos más elevados proceden del grupo de neonatos con enfermedades no infecciosas, seguido por el grupo con sepsis neonatal precoz, a pesar de las limitaciones respecto al número de pacientes incluidos en su estudio.

Hace décadas estas conclusiones ya fueron extraídas de diferentes estudios, entre los cuales *Rodwell y cols.* (95) formularon un sistema de puntuación para los parámetros hematológicos; el que, aunque posteriormente se ha ido desarrollando, según estos autores no posee ningún valor en la identificación del recién nacido infectado.

Recientemente, en un estudio realizado por *Beeram y cols.* (96), se evaluaron los parámetros hematológicos en sangre de cordón además de hemocultivos realizados en este tipo de muestra, en comparación con estos mismos en sangre neonatal para el cribado de SGB. Se observaron diferencias

estadísticas del recuento de la serie blanca en sangre de cordón, donde se encontraron valores más elevados, respecto a los hallados en sangre del recién nacido.

Por otro lado, los valores de los marcadores bioquímicos hallados en el estudio fueron los esperados por nuestro equipo de trabajo, ya que se obtuvieron concentraciones similares de PCR, PCT e IL-6 en el grupo de estudio en Maternidad y en el grupo de neonatos prematuros, tanto en sangre de cordón como en la del recién nacido a las 24 horas de vida.

En concreto, los valores de las medianas de IL-6 resultaron más elevados en primer lugar, en el grupo de sospecha de infección (38,02 pg/mL), seguido por el grupo de sepsis neonatal precoz (6,96 pg/mL) y, en menor medida, por el grupo de ingreso por otras causas (5,82 pg/mL) y el grupo de neonatos prematuros (5,26 pg/mL); ocupando el último puesto el grupo de estudio en Maternidad (3,86 pg/mL).

Además, en el grupo de sospecha de infección se encontraron diferencias respecto al grupo de neonatos de estudio en Maternidad, siendo la media alcanzada de IL-6 en sangre de cordón en este grupo de 750 pg/mL, con valores máximos en algunos casos de 5000 pg/mL (límite superior del rango de medida de la técnica). En cambio, los valores medios del grupo de sepsis neonatal precoz confirmada no alcanzaron concentraciones de 15 pg/mL de este marcador.

Respecto a esto, en el estudio de *Cancelier y cols.* (90), las determinaciones obtenidas de IL-6 en sangre de cordón alcanzaron valores de 180 pg/mL en pacientes con sepsis neonatal precoz, frente a valores de 50 pg/mL del grupo control, que consistía en neonatos sin sepsis neonatal pero con factores de riesgo infeccioso, similar a nuestro grupo de estudio en Maternidad o Grupo 1. Por lo que, aunque las concentraciones no son similares, sí se observa una tendencia en el comportamiento de este marcador bioquímico en sangre de cordón en los pacientes de nuestro estudio.

Otro de los estudios de la determinación de los marcadores en sangre de cordón (77), reporta valores medios de PCR de 0,26 mg/dL en un grupo de estudio de neonatos con sepsis neonatal precoz, resultado que no coincide con este trabajo, ya que sus concentraciones medias más elevadas se encontraron en el grupo de neonatos con sospecha de infección; en cambio, en nuestro grupo de estudio con sepsis estos valores alcanzados eran similares a los obtenidos en el grupo control y en el grupo de neonatos prematuros.

Y, por último, en el grupo de neonatos con sospecha de infección se encontraron los valores de mediana más elevados de los tres marcadores bioquímicos de sepsis en sangre determinados en las primeras veinticuatro horas de vida del recién nacido, concretamente la IL-6 (87,33 pg/mL); seguido por el grupo de neonatos que desarrollaron sepsis neonatal precoz, a pesar de la limitación del número de pacientes (con valores de IL-6 de 63,74 pg/mL). Este hecho coincide con la tendencia que siguen estos marcadores bioquímicos en sangre de cordón, ya mencionada anteriormente.

Los resultados microbiológicos de los hemocultivos, en los casos de sepsis neonatal precoz confirmada, coinciden de alguna forma con la literatura descrita, ya que como se muestra en algunos estudios los patógenos más comunes incluyen *Escherichia coli* o *Staphylococcus spp.* (18).

En nuestro estudio, en el grupo de sepsis neonatal precoz de diez pacientes incluidos, en siete de ellos se obtuvo hemocultivo positivo; pero hay que subrayar el hecho de que en tres recién nacidos no se consiguió aislar ningún microorganismo, pero sí fueron diagnosticados como sepsis neonatal precoz sin confirmación bacteriológica por el equipo médico del hospital, debido a la clínica de sepsis que presentaban.

También es cierto que algunos bacilos gramnegativos, como *Enterobacter cloacae* o *Klebsiella pneumoniae*, resultaron ser causantes del 40% de las sepsis neonatales precoces de nuestro quinto grupo, hallazgo que se apoya en que, debido a los protocolos de prevención basados en la profilaxis antibiótica anteparto contra el SGB, se ha disminuido la importancia de este microorganismo como principal agente etiológico de la sepsis neonatal

precoz, siendo reemplazado en frecuencia por otros bacilos gramnegativos y volviendo así a ocupar estos últimos los primeros lugares de esta clasificación, como ya ocurría en décadas anteriores (17).

Aunque por otro lado, en un reciente estudio (97) realizado por *Weston y cols.*, en el que se realizó una estimación de la mortalidad por sepsis neonatal precoz en Estados Unidos en la era de la prevención de SGB, se llegó a la conclusión de que, a pesar de la fuerte puesta en marcha a nivel internacional de las guías de prevención de SGB (98), este microorganismo sigue siendo el principal causante de la sepsis neonatal precoz, seguido muy de cerca por *Escherichia coli*.

Si bien es cierto, se ha reducido notablemente la invasión de este agente causal en los últimos años en relación a la sepsis neonatal precoz (99), aunque hay que continuar estudiando los casos de neonatos prematuros.

Como ya hemos comentado, existen varios factores de riesgo infeccioso asociados tanto al neonato como a la madre, que pueden tener mayor o menor influencia en los marcadores de sepsis en el estudio de la sepsis neonatal precoz.

Entre ellos, es conocida la relación que existe entre los altos ratios de mortalidad y morbilidad en neonatos prematuros y la rotura prematura de membranas, como factor predisponente a las infecciones neonatales precoces (100). Si bien es cierto, los avances en las terapias de prevención antenatales han prolongado el período de rotura prematura de membranas en el parto de estas pacientes, reduciendo así la posibilidad de infección neonatal (101).

En nuestro trabajo, la rotura de membranas superior a 12 horas resultó ser un factor de riesgo con una relación significativa con la IL-6 y con la PCT en sangre de cordón, concretamente en el grupo de neonatos prematuros y en la población total de estudio.

Diversos autores han estudiado la relación de la PCT en sangre materna en diferentes grupos de pacientes en presencia de rotura prematura de membranas, rotura de membranas, mujeres sanas con gestación pretérmino y

mujeres sanas; además de los valores de PCR y recuento leucocitario, obteniéndose resultados no satisfactorios, es decir, no encontrándose diferencias significativas en ninguno de los grupos, a pesar de que las concentraciones de estos parámetros fueron elevadas en todos los grupos de este estudio (102).

Por el contrario, trabajos más recientes a este último, relacionan las concentraciones de citoquinas en sangre de cordón y en sangre materna de pacientes que sufrieron rotura prematura prolongada de membranas (65). En este caso, se observan resultados satisfactorios en contraposición al estudio anteriormente citado, en cuanto a los niveles de IL-6 maternos entre los dos grupos de estudio en presencia o ausencia de este factor de riesgo infeccioso, pero no se encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles hallados en sangre de cordón. En cambio, en estudios similares (103), se encontraron niveles elevados de IL-6 en sangre de cordón en neonatos prematuros con rotura prematura de membranas previa, y su asociación con un incremento en el riesgo neonatal de padecer patologías como el SIRS, enterocolitis necrotizante y leucomalacia periventricular; resultando ser la IL-6 un factor de riesgo independiente en esta última patología.

Esto coincide en cierta forma con los resultados obtenidos en nuestro estudio donde, además de los niveles significativos de IL-6 en el grupo de prematuros, también se encontraron valores de PCT superiores en el grupo de neonatos que ingresaron en la Sección de Neonatología por otros motivos, aunque ciertamente ninguno de los motivos de ingreso fueron similares a los citados por *Goepfert y cols.* (103).

Otro de los factores de riesgo que se han estudiado en este trabajo es la ya ampliamente estudiada fiebre materna intraparto, y su relación con la sepsis neonatal precoz. En nuestro trabajo, se decidió coger como punto de corte una temperatura de 37,5°C, puesto que existen trabajos donde establecen fiebre materna intraparto en 38°C (104;105), y otros en 37,5°C como factor de riesgo 6,5 veces superior de desarrollar sepsis neonatal precoz relacionada con el microorganismo SGB comparado con mujeres sin este factor de riesgo (48), o

en el reciente estudio de la evaluación de la anestesia epidural como factor independiente en la fiebre neonatal (106); por lo que finalmente se estableció la temperatura más baja para incluir a mujeres que también tuvieron febrícula durante el parto.

En la actualidad, los neonatólogos emplean factores maternos intraparto de riesgo como fiebre, rotura prolongada de membranas y corioamnionitis, para determinar si los neonatos asintomáticos con posterior sepsis neonatal precoz reciben una correcta evaluación después del parto. Sin embargo, mientras que los factores de riesgo pueden causar infección materna afectando así al neonato, existen estudios que indican que muchos de los casos de fiebre materna intraparto en mujeres con embarazos a término, en realidad pueden ser consecuencia de la analgesia epidural (46), como ya indicamos anteriormente en la introducción.

En el trabajo de *Mathai y cols.* (105), se encontró que tanto la fiebre intraparto materna, como la rotura prematura de membranas y el trabajo prolongado durante el parto, se asociaron significativamente con valores de PCR en sangre de cordón superiores a 6 mg/dL. Estos resultados no coinciden con los de este trabajo, ya que en el nuestro, de los marcadores bioquímicos de sepsis, únicamente la PCT y la IL-6 se asociaron a los diferentes factores de riesgo infeccioso, como ya hemos comentado.

En otro trabajo, un estudio observacional realizado por *Chen y cols.* (47), en una serie de recién nacidos con sepsis neonatal precoz, casi el 60% de los pacientes fueron asintomáticos en el momento del parto, pero más tarde desarrollaron sepsis neonatal precoz; registrándose en los resultados que dos tercios de éstos fueron evaluados debido a factores de riesgo intraparto, pero un tercio de esta población total sólo fue estudiada cuando la clínica era sugestiva de infección después del parto. A pesar de las limitaciones del estudio, de la ya conocida asociación entre la fiebre intraparto con el uso de la anestesia epidural en embarazos a término, y de la menor especificidad de este tipo de anestesia como factor de riesgo, estos autores concluyen que si se hubiese ignorado la fiebre intraparto, alrededor de un cuarto de los neonatos a

término asintomáticos con sepsis neonatal precoz no se hubiesen sometido a una evaluación de sepsis inmediatamente después del parto.

En un trabajo más reciente (89), diversos autores estudian los valores de referencia de nuevos marcadores de sepsis (Pro-amedulina, Pro-endotelina y Péptido natriurético pro-atrial), además de la ya conocida PCT en sangre de cordón, determinados en una población de neonatos que presentaba factores de riesgo infeccioso en comparación con neonatos a término sin factores de riesgo asociados.

Entre estos factores se encontraron tales como un resultado positivo del test de SGB materno, rotura prematura de membranas y fiebre materna intraparto. Respecto a este último factor de riesgo, se obtuvieron valores medios de PCT de 0,15 ng/mL en sangre de cordón, concentraciones ligeramente inferiores a la media obtenida en nuestro trabajo (0,245 ng/mL) en la población total del estudio, donde se encontraron diferencias significativas en este parámetro respecto a la fiebre intraparto. Este hallazgo de valores más elevados en nuestra población, en comparación con este último estudio de *Miguel y cols.* (89), puede ser debido a un mayor número de recién nacidos incluidos en nuestro trabajo, ya que encontramos 47 casos de madres con fiebre materna intraparto, mientras que tan solo fueron cinco los casos con este factor de riesgo los que se registraron en el citado estudio.

En cuanto a la positividad del test de SGB que se realiza a las madres en las últimas semanas de embarazo, ya hemos comentado que se ha considerado como un factor de riesgo menor, ya que suponemos que en todos estos casos de resultados positivos, se administró tratamiento antibiótico profiláctico, aunque desconocemos el cumplimiento total del tratamiento en estas pacientes. Además, se ha visto una correlación entre el resultado positivo de SGB en las madres de los recién nacidos del Grupo 2 o aquellos ingresados en Neonatología por sospecha de infección con la IL-6 en sangre de cordón.

Y por último, la prematuridad, considerada como un factor de riesgo infeccioso por sí mismo, ha sido estudiada en este trabajo de forma especial, ya que se ha considerado que los neonatos prematuros incluidos en la

población total debían evaluarse los niveles de los marcadores de sepsis en sangre de cordón de forma independiente al resto de los pacientes.

En este grupo se encontraron diferencias significativas, además de una correlación positiva, entre la edad de gestación y los cocientes establecidos entre los marcadores bioquímicos en sangre de cordón y en sangre del neonato a las 24 horas de vida.

Esto quiere decir que, cuanto más prematuro era el neonato, los niveles de los marcadores de sepsis en sangre de cordón eran más bajos, hecho que se puede explicar por la inmadurez del sistema inmunitario de estos recién nacidos.

Para neonatos prematuros, *Dollner y cols.* (107) encontraron un valor diagnóstico significativo para la IL-6 en muestras de sangre de cordón recogidas inmediatamente después del nacimiento, a pesar de que el número de pacientes incluidos en el estudio era limitado. En un estudio similar, cuando la recogida de la muestra tenía lugar en las primeras 48 horas de vida del neonato, los resultados fueron más inspiradores con un mayor tamaño muestral (108).

Además, se ha visto que la presencia de los diferentes factores de riesgo infeccioso, tanto maternos como los relacionados con el neonato, está implicada en los incrementos de las concentraciones de este marcador en sangre de cordón (109). En concreto, los niveles de IL-6 están correlacionados negativamente con la edad gestacional, y la cinética de esta citoquina durante las primeras 48 horas de vida después del parto es diferente entre neonatos sanos y prematuros (110), no encontrándose relación alguna entre el tipo de parto en las concentraciones de sangre neonatal y las obtenidas en sangre de cordón (111).

Por otro lado, la indetectable respuesta de la IL-6 en muestras de sangre de cordón en neonatos infectados del estudio de *Dollner y cols.* (107) fue considerado como consecuencia de la diferencia en el tiempo de infección de los prematuros, ya que el neonato a término puede ser expuesto al

microorganismo causante de la infección posiblemente durante el paso del canal del parto.

Estos resultados no resultan contradictorios con las investigaciones de *Tasci y cols.* (112), en las que los recién nacidos a término eran expuestos a un entorno extramembrana durante relativamente mucho tiempo en el estudio de la IL-6 en sangre de cordón en la predicción de corioamnionitis histológica, funisitis e infección neonatal. La diferencia entre los experimentos llevados a cabo en muestras de sangre de cordón y sangre del neonato al nacimiento pudo ser debida, probablemente, a la cinética de la propia molécula.

Otros estudios han demostrado que el tiempo de recogida de la muestra es un factor importante en la detección de altos niveles de IL-6 en plasma en recién nacidos con sepsis neonatal precoz (113).

Lamentablemente, como ya hemos comentado anteriormente, tanto los estudios realizados tanto por *Santana y cols.* (77) como por *Dollner y cols.* (107) fueron limitados por el escaso número de individuos incluidos en ellos, por lo que no se puede asegurar que los buenos resultados no estuviesen influenciados de alguna forma. Otros autores sugieren que la asociación entre los niveles de la IL-6 en sangre de cordón y la PCR a las 24 horas de vida del neonato podría excluir la infección neonatal bacteriana (114), pero no se ha encontrado esta combinación para la sepsis neonatal precoz en la bibliografía.

Muchos otros factores fisiológicos y patológicos, como la asfixia perinatal, el síndrome de aspiración meconial, incluso el momento del parto en sí mismo, como posibles fuentes de inflamación, pueden aumentar los niveles de IL-6 en plasma umbilical en ausencia de infección neonatal (115).

Respecto a este interrogante, los resultados de nuestro estudio coinciden con los de estos autores, ya que los niveles de los tres marcadores bioquímicos en sangre de cordón se encontraron aumentados, no siendo los más elevados de los grupos de estudio, y además se hallaron dos pacientes con valores muy elevados (*outliers*), cuyo descriptivo ya se ha comentado en el capítulo de resultados.

Esta característica parece ser responsable del bajo valor predictivo positivo de la IL-6, en concreto cuando se determina en sangre de cordón en el momento del parto. En cambio, cuando se evalúa en pacientes con factores de riesgo clínicos, como prematuridad y rotura prematura de membranas, se ha visto que su utilidad podría ser mejorada (108), como podemos observar del mismo modo en los resultados obtenidos en nuestro estudio, donde los valores de los marcadores de sepsis se encuentran significativamente aumentados en presencia de estos factores de riesgo infeccioso.

En cuanto al estudio de las técnicas de biología molecular en muestras de sangre de cordón, éstas se realizaron para evaluar muestras como son las de sangre de cordón umbilical, en las que hasta ahora no se han realizado estudios como el que estamos tratando; además de comparar los resultados obtenidos respecto a los hemocultivos, y relacionarlos con los factores de riesgo presentes en los neonatos de la población.

Como se ha mencionado en el capítulo de sujetos y método, estas técnicas no se realizaron en el grupo de estudio en Maternidad ya que, puesto que estos recién nacidos no ingresaron en Neonatología, no se realizó hemocultivo a ninguno de ellos y, por tanto, tan solo se determinaron las concentraciones de los marcadores bioquímicos en la sangre de cordón de aquellos neonatos seleccionados aleatoriamente, que finalmente iban a constituir este primer grupo.

En primer lugar, es importante comentar que hasta la fecha existen algunos trabajos (83), donde se ha estudiado esta técnica como futura herramienta en el diagnóstico de la sepsis, teniendo como principal ventaja una rápida identificación del microorganismo y la consecuente instauración de un tratamiento antibiótico precoz.

Son muchos los estudios realizados en pacientes adultos en las unidades de cuidados intensivos (116) o en pacientes onco-hematológicos (117), pero en menor medida son los enfocados al período neonatal. Además, todos éstos han sido determinados en muestras de sangre total de los pacientes para su posterior comparación con los resultados microbiológicos del hemocultivo.

En nuestro caso, hemos querido realizar estas técnicas en muestras de sangre de cordón umbilical puesto que nuestro trabajo está enfocado a la evaluación de diferentes marcadores de sepsis en este tipo de muestra biológica.

En el análisis descriptivo de la población total y la realizada en los diferentes grupos de estudio, hemos observado que en el grupo con sospecha de infección las técnicas de *Septifast* identificaron varios microorganismos que posteriormente no se aislaron en el hemocultivo. Como ya hemos visto, este grupo de neonatos fue clasificado así por su ingreso en la Sección de Neonatología al poseer uno o más factores de riesgo infeccioso. Además, los valores de los marcadores bioquímicos de sepsis en este grupo han resultado ser de los más elevados respecto al resto de la población.

Algunos de los resultados positivos de estas técnicas de biología molecular en muestras de sangre de cordón que hemos podido encontrar es todavía un tanto incierto, y la influencia del tratamiento antibiótico suministrado a las pacientes con factores de riesgo infeccioso asociados al embarazo, como presencia de SGB, rotura de membranas o incluso la presencia de alta temperatura durante el parto, creemos que puede ser un condicionante en la detección de microorganismos.

No obstante, como ocurre en el caso de los hemocultivos, es importante el momento de obtención de la muestra, ya que de ello depende que más tarde crezca el microorganismo responsable de la infección en los medios de cultivo habituales o, por el contrario, no se pueda proceder a su aislamiento. No es exactamente el mismo caso pero, partiendo de la hipótesis de que el agente causal de la infección se transmite verticalmente a través del canal del parto de la madre al recién nacido en la sepsis neonatal precoz, se puede pensar que el momento de la toma de la sangre de cordón umbilical para la determinación de grupo sanguíneo también puede influir en los resultados.

Es por esto por lo que algunos de los resultados positivos hallados en los diferentes grupos, incluso los posibles microorganismos grampositivos y gramnegativos, denominados así por el software utilizado en los experimentos por su carácter contaminante, no resultan extraños a la hora de analizar los

datos. En cambio, sí que resultan destacables algunos pacientes con hemocultivo negativo y técnicas de biología molecular positivas, además de altos niveles de marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón, aunque no de forma significativa.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo resultan optimistas, ya que se detectó desde un 10% y 12% respectivamente, en los grupos de ingreso por otros motivos y en los neonatos prematuros, hasta un 30% en el grupo de sospecha de infección, y un 50% en el grupo de sepsis neonatal precoz, teniendo en cuenta un probable grampositivo. Por otro lado, es importante subrayar que 40 de las muestras de sangre de cordón procesadas de la población total de estudio tuvieron resultados positivos, siendo un 5% de éstos, pacientes con hemocultivo positivo y un 95% con hemocultivo negativo; por lo que aquí se plantea un interrogante para futuros estudios, puesto que estas técnicas de biología molecular podrían estar prediciendo algún acontecimiento que, posteriormente, no se ha detectado en el hemocultivo pero el paciente sí ha tenido clínica o síntomas de sepsis.

En este aspecto, algunos autores (118) han realizado estudios comparando los resultados microbiológicos de los hemocultivos con los obtenidos mediante técnicas de biología molecular en sangre del paciente, siendo algunos de estos estudios muy satisfactorios. En este estudio, mediante la realización de un algoritmo basado en el resultado microscópico del hemocultivo, se llegó a la detección correcta mediante el uso del *Septifast* de un 98,3% de los microorganismos hallados en estos cultivos.

Por último, lo más destacable en estudios más recientes (82), además de la coincidencia de los resultados de las técnicas convencionales y las de biología molecular y la rápida detección de los microorganismos, es la reducción considerable en el flujo de trabajo al sustituir la extracción manual del DNA bacteriano por una automatizada, del mismo modo que hemos realizado en este trabajo.

Como ya hemos ido comentado a lo largo de todo el trabajo, la IL-6 es una citoquina pleiotrópica con diferentes funciones inmunológicas, que incluyen

la inducción de otros reactantes de fase aguda y todas ellas juegan un importante papel en la respuesta a la infección en el tejido dañado. Además, es sabido que el papel que desempeña esta citoquina en el recién nacido, particularmente durante las primeras veinticuatro horas de vida, todavía no está bien definido.

Los resultados hallados en nuestro estudio respecto a la influencia de los diferentes factores de riesgo ya descritos sobre los marcadores bioquímicos de sepsis, nos señalan que los marcadores sobre los que más influencia ejercieron estas variables fueron la PCT y la IL-6.

Así mismo, hemos podido observar que los niveles de IL-6 en sangre de cordón pueden estar relacionados con diferentes condiciones en el período neonatal, tanto infecciosas como no infecciosas, del mismo modo que ya afirmaron *Santana y cols.* (77) en su estudio.

Hace ya dos décadas, varios autores (119;120) encontraban una producción disminuida de IL-6 en el neonato, probablemente debida a su condición de prematuridad. En esa misma década de los 90, tanto *Miller y cols.* (121) como *Smulian y cols.* (122) hallaron altos niveles de IL-6 en sangre de cordón en recién nacidos con infección en comparación con neonatos con patologías no infecciosas. Por otro lado, *Lehrnbecher y cols.* (123), también vieron altas concentraciones de IL-6 en sangre de cordón y sangre del neonato en las primeras veinticuatro horas de vida en recién nacidos con infección. De la misma manera, en el estudio de *Messer y cols.* (124) se hallaron altos niveles de esta citoquina en las primeras doce horas de vida de neonatos infectados que posteriormente desarrollaron sepsis.

Con todo esto lo que queremos señalar es que nuestros resultados coinciden con los de estos autores ya mencionados, ya que hemos visto cómo la IL-6 está elevada en sangre de cordón, sobre todo en el grupo de sospecha de infección; pero además, aunque en menor medida, en el grupo de ingreso en Neonatología por otros motivos. Como ya hemos visto, en el grupo de sepsis neonatal precoz, los valores de los marcadores bioquímicos de sepsis

encontrados en sangre de cordón no resultaron ser tan elevados como en el resto de grupos.

El modelo logístico de regresión puede utilizarse para determinar intervalos de confianza de la *Odds Ratio* (OR) o también llamado oportunidad relativa. Es el cociente entre la oportunidad o aparición de un suceso en individuos expuestos a un factor de riesgo frente a la oportunidad o aparición de ese suceso en individuos controles o no expuestos a ese factor de riesgo. Valores de OR superiores a 1 es la mayor oportunidad de aparición del evento en los sujetos expuestos en los controles, o que se ha localizado un factor de riesgo. Por el contrario, valores de OR inferiores a 1 es la menor oportunidad de aparición del evento en sujetos no expuestos que en los controles.

A la hora de evaluar los factores de riesgo de las diferentes variables estudiadas, los parámetros en los que hay prestar mayor atención son la significación del coeficiente del modelo (basada en el estadístico Wald) y el exponente ($\text{Exp } b_i$). El primero de ellos para el coeficiente b_i es la que corresponde a contrastar la hipótesis nula de que ésta vale cero; o lo que es lo mismo, que la variable x_i no es factor de riesgo para la patología asociada. Y el exponente, junto con los intervalos de confianza para la $\text{Exp } (b_i) = \text{OR}$, si no contienen el 1, es señal de que la variable es de interés para el modelo con el mismo significado que el anterior parámetro, pero resaltando más su significado clínico.

Para el estudio de regresión logística, se empleó el grupo de sospecha de infección por la presencia de altas concentraciones de los marcadores bioquímicos en sangre de cordón, y por la influencia que ciertos factores de riesgo ejercían sobre éstos; pero el principal motivo de la elección de este Grupo 2 y no del Grupo de sepsis neonatal precoz fue por el limitado número que componía este último grupo de estudio.

Como ya se ha dicho, en esta prueba estadística, se emplearon los puntos de corte ya establecidos en un estudio anterior (78), puesto que se consideró que estos valores hallados se ajustaban a nuestra población y a la finalidad de nuestro trabajo.

A pesar de estas dos limitaciones, los puntos de corte de los marcadores de sepsis previamente establecidos y que el grupo era el de sospecha de infección, los resultados no fueron del todo insatisfactorios. Por un lado, se obtuvo una OR para la PCR en sangre de cordón de 5,091 y, por otro lado, para la IL-6 fue de 17,644; lo que significa que el aumento de la IL-6 por encima del punto de corte establecido (250 pg/mL) incrementa el riesgo relativo de pertenecer al Grupo 2 o de sospecha de sepsis en 17 veces, lo que puede ayudar a discriminar los neonatos que hay que evaluar en el momento de analizar la sangre de cordón. Aunque, por otro lado, no implica como ya hemos visto que se vayan a desarrollar sepsis, quizás, porque al ingresarlos en la Sección de Neonatología se instaura la profilaxis antibiótica.

En este sentido, en estudios como el realizado por *Cancelier y cols.* (90) se ha visto que algunas citoquinas como la IL-6 o la IL-10 están asociadas de forma independiente a la sepsis neonatal, no así como algunas especies reactivas como marcadores de la oxidación lipídica, siendo éstas mejores predictoras de la sepsis neonatal que estas dos citoquinas.

La calidad de una prueba diagnóstica utilizada para el cuidado de los pacientes no se juzga sólo por sus características analíticas sino, fundamentalmente, por su capacidad para distinguir entre estados alternativos de salud. Siempre que una cuestión clínica y el resultado de la prueba diagnóstica encaminada a resolverla puedan plantearse en términos de presencia o ausencia de enfermedad, o positivo o negativo, la exactitud de la prueba puede definirse en función de su sensibilidad y especificidad diagnósticas (125).

La sensibilidad de una prueba diagnóstica es la probabilidad de obtener un resultado positivo cuando el individuo tiene la enfermedad; mide su capacidad para detectar la enfermedad cuando está presente. En cambio, la especificidad de una prueba indica la probabilidad de obtener un resultado negativo cuando el individuo no tiene la enfermedad, es decir, mide su capacidad para descartar la enfermedad cuando ésta no está presente.

Los valores predictivos de una prueba, a diferencia de la sensibilidad y especificidad, varían en función de la prevalencia de la enfermedad. Si se estudia una enfermedad cuya prevalencia es baja, incluso una prueba muy específica dará lugar a muchos falsos positivos, dado el elevado número de individuos sanos de la colectividad. Si la prevalencia es alta se puede esperar un mayor número de resultados falsamente negativos. Por tanto, cuanto menor sea la prevalencia de la enfermedad menor será el VPP y mayor el VPN; lo contrario será cierto si la prevalencia es elevada (126).

Por último, la curva ROC es un gráfico en el que se observan todos los pares sensibilidad/especificidad resultantes de la variación continua de los puntos de corte en todo el rango de resultados observados. Una prueba de discriminación perfecta, sin solapamiento de resultados en las dos poblaciones, tiene una curva ROC que pasa por la esquina superior izquierda, donde sensibilidad y especificidad toman valores máximos (cerca de 1) (127).

Sabiendo todo esto, respecto a las curvas ROC realizadas en este trabajo, se decidió emplear, en un primer paso, el Grupo 2 con sospecha de infección, como en el caso de la regresión logística, así como el Grupo 5 con sepsis neonatal precoz, para evaluar si los marcadores bioquímicos de sepsis obtenidos en las muestras de sangre de cordón eran válidos para discriminar entre estos dos posibles estados del neonato, ya que consideramos que cualquiera de las dos situaciones tenían suficiente importancia.

Por un lado, el grupo de neonatos con sepsis neonatal precoz, a pesar de su reducido número de componentes, era un objetivo claro de nuestro estudio; y, por otro lado, los valores obtenidos en el estudio descriptivo y analítico previo en el grupo de recién nacidos con sospecha de infección, nos ha llevado a realizar esta valoración de la utilidad de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón mediante las curvas ROC.

En el primer caso de los neonatos con sospecha de infección, los valores más elevados de área bajo la curva fueron los obtenidos por la IL-6. Estableciendo puntos de corte para este marcador de 25,6 pg/mL, se obtuvo únicamente una sensibilidad del 58,5% y una especificidad del 92,4%, además de un valor

predictivo y negativo de 68,9% y 88,5%, respectivamente. Se encontraron además, diferencias significativas entre las áreas bajo la curva de la IL-6 con la PCT, y con la PCR.

En el grupo con sepsis neonatal precoz, el marcador con mayor área bajo la curva fue el obtenido por la PCT; con valores inferiores a 0,067 ng/mL se excluye sepsis en un 99% de los casos (valor predictivo negativo). En este grupo no se encontraron diferencias entre las áreas bajo la curva de los marcadores bioquímicos.

Resultados similares son los obtenidos por *Joram y cols.* (71), usando como puntos de corte de PCT en sangre de cordón de 0,5 ng/mL. Otros autores registran valores de sensibilidad y especificidad de 69% y 81% respectivamente, con concentraciones de 2,6 ng/mL (128). En estudios posteriores, estos autores (129) encontraron una sensibilidad y una especificidad del 80% y 72% respectivamente, con puntos de corte de 1,22 ng/mL de este marcador, siendo la PCT más sensible que la PCR en cada una de las series estudiadas.

Por otro lado, *López Sastre y cols.* establecieron puntos de corte de PCT de 0,55 ng/mL, obteniendo únicamente un 75% y un 72% de sensibilidad y especificidad respectivamente en sangre del neonato al nacimiento (130).

En primer lugar y respecto a la PCR, como ya hemos comentado anteriormente del estudio de *Santana y cols.* (77), en ese trabajo se utilizó un método de enzimoimmunoensayo por quimioluminiscencia en fase sólida más sensible para la determinación de la PCR en sangre de cordón, encontrándose que los niveles de éste eran bajos (0,076-0,63 mg/dL) y no existían diferencias entre los grupos de estudio sanos, con factores de riesgo infeccioso y con factores de riesgo no infeccioso.

Se ha visto que los niveles de PCR en este tipo de muestras pueden no aumentarse en presencia de vasculitis umbilical, que a menudo refleja una corioamnionitis severa con enfermedades neonatales, mientras que otros muchos marcadores sí se encuentran aumentados (131).

Por el contrario, existen varios estudios donde se han podido observar valores elevados de PCR en sangre de cordón en ausencia de infección, pero con severos factores de riesgo infeccioso intraparto (105), como en el caso del uso de corticosteroides prenatales (132), síndrome de aspiración meconial y en neonatos prematuros de alto peso al nacimiento (133).

Por otro lado, en cuanto a la PCT, se ha visto que la inflamación prenatal, la hemorragia intracraneal, la asfixia al nacimiento, el síndrome de distrés respiratorio, la hipoxemia, el fracaso hemodinámico, el neumotórax y la diabetes gestacional son situaciones que también pueden causar un incremento en los niveles de PCT circulante (129;134). Se ha demostrado que los niveles de PCT en sangre materna no tiene correlación con las concentraciones de este marcador halladas en sangre de cordón umbilical en recién nacidos infectados (135); sin embargo, en neonatos no infectados todavía resulta controvertido si los niveles de PCT en sangre cordón están afectados por los respectivos niveles del marcador en sangre materna (135;136). En nuestro estudio, los valores de PCT en sangre de cordón

El valor de referencia en recién nacidos sanos fue establecido por primera vez mediante tecnología *Time-Resolved Amplified Cryptate Emission* (TRACE) en 2007, con un rango entre 0,04 a 0,43 mg/L (137). Considerando que la edad gestacional tiene un efecto negativo en los niveles de PCT en el momento del parto, existen estudios que aseguran que la utilidad clínica de la PCT en el diagnóstico de la sepsis neonatal precoz requiere establecer un rango de referencia que cubra la edad gestacional como la postnatal (132).

En 2006, Joram y cols. (71) concluyeron que las concentraciones de PCT en sangre umbilical podría servir como marcador predictivo para el diagnóstico temprano de la sepsis neonatal precoz. En este estudio prospectivo, el tamaño de la población era relativamente pequeño (197 recién nacidos) y los resultados fueron prometedores con altos valores de sensibilidad (87,5%), especificidad (98,7%), valor predictivo positivo (87,5%) y negativo (98,7%), *likelihood ratio* positivo (67,3) y negativo (0,13), estableciendo como punto de corte 0,5 ng/mL.

Sin embargo, en un estudio retrospectivo más reciente (129), estos autores llegan a conclusiones diferentes. En este último trabajo, se estudia la PCT en sangre de cordón como posible marcador discriminante en las infecciones neonatales precoces. Sobre una amplia población de estudio y su clasificación en diferentes grupos (neonatos infectados, probablemente infectados y no infectados), se obtuvieron altos valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y *likekihood ratios*, con un punto de corte de 0,6 ng/mL; pero sólo un 30% de valor predictivo positivo. Así, se verificó la capacidad de la PCT de detectar pacientes no infectados entre aquellos que presentaban factores de riesgo infeccioso. El bajo valor predictivo positivo se explica por el resultado del impacto de la asfixia perinatal y la inflamación antenatal que promueve la producción de la PCT.

En realidad, en los trabajos previos de estos autores, los neonatos prematuros sólo constituían un 18% de la población respecto al 38% de la población más reciente, lo que puede realzar la tendencia causada por la asfixia perinatal y la inflamación antenatal. Además, la menor incidencia de sepsis neonatal precoz en el último estudio (1,2%), también influyó en el valor predictivo positivo comparado con el 9,6% del estudio anterior.

Este resultado también coincide con el de nuestro estudio, cuyo bajo valor predictivo positivo podría deberse al limitado número de pacientes incluidos en el último grupo de estudio de sepsis neonatal precoz.

En la investigación de nuevas herramientas para la predicción de sepsis neonatal precoz de varios estudios con poblaciones de casi 300 neonatos (71;128;129), cuando los autores utilizan la PCT de sangre de cordón como único factor predictivo, los resultados son muy similares al estudio realizado por *Joram y cols.*

En uno de éstos, *Kordek y cols.* (128) crea un modelo considerando toda la información compuesta por factores maternos y perinatales, resultados de exámenes físicos, la adaptación postparto, el estado neonatal clínico y pruebas de laboratorio. El modelo, como se esperaba, alcanzó el funcionamiento más satisfactorio: basado en los niveles en sangre de cordón de PCT y PCR, y

compuesto por siete variables bioquímicas y clínicas, incluyendo tocolisis, el estado alimenticio de recién nacidos, la puntuación APGAR y el cociente de granulocitos inmaduros y neutrófilos totales, se obtuvieron altos valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivo y negativo, y *likelihood ratios*.

En un estudio multicéntrico internacional, el uso de un algoritmo basado en la PCT en sangre de cordón permitió acortar la duración de la terapia antibiótica en neonatos a término y pretérmino con sospecha de sepsis neonatal precoz (134;138).

En estos trabajos, la PCT ha resultado ser un marcador más sensible que la PCR y las citoquinas para pacientes con sepsis neonatal precoz. Estudiar su concentración en sangre de cordón antes del aumento fisiológico que se produce al nacimiento hace que la interpretación de su valor diagnóstico sea más fácil. La combinación con otros marcadores hematológicos, además de la observación clínica, mejora su fiabilidad clínica. Su capacidad eventual de distinguir a neonatos no infectados de aquellos con factores de riesgo infeccioso puede contribuir a reducir el empleo de tratamientos antibióticos innecesarios, ya que como bien muestra un estudio, medidas seriadas de la PCT al nacimiento podrían servir como un índice de referencia para el uso antibiótico (139).

Respecto a la IL-6, en nuestro estudio tan solo obtuvimos resultados de sensibilidad y especificidad de 80% y 53,75% respectivamente, para valores superiores a 5,57 pg/mL cuando se realizó el estudio del grupo de sepsis neonatal precoz respecto al resto de la población de estudio.

Estos resultados no coinciden con el estudio más reciente ya citado anteriormente (78), en el que los datos son más favorables, donde se obtenían valores de sensibilidad del 90% y de especificidad del 87,4% para la IL-6 en sangre de cordón, con puntos de corte de 250 pg/mL.

Sin embargo, sí coinciden con los obtenidos por *Dollner y cols.*, donde los valores de sensibilidad de la IL-6 fueron de 84%, en la evaluación de diferentes mediadores de inflamación grave en sangre de cordón (107), siendo

el grupo de sepsis confirmada muy reducido y compuesto únicamente de 11 neonatos, cifra similar a nuestro estudio. En este estudio también se encontraron que los niveles de PCR en sangre de cordón fueron prácticamente indetectables en casi todos los recién nacidos, tanto en el grupo control como en el infeccioso.

Además de determinar los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, también se hallaron los valores de *likelihood ratio* positivo y negativo o cociente de probabilidades, que indican cuánto más probable es un resultado determinado de una prueba diagnóstica en un paciente con una enfermedad dada comparado con un paciente sin la enfermedad. Los valores ideales son aquellos superiores a 10 para el caso de LR+, e inferiores a 0,1 para LR-.

En nuestro estudio, para un intervalo de confianza del 95%, los valores más óptimos de los marcadores bioquímicos en sangre de cordón en el grupo de sospecha de sepsis fueron los obtenidos por la PCR y por la IL-6.

Valores mucho más favorables en la evaluación diagnóstica de estos marcadores en sangre de cordón, los obtuvieron *Cernada y cols.* (78) tanto para la IL-6 (LR+: 7,14 y LR- 0,11) como para la PCR (LR+ 2,86 y LR- 0,51), realizando estas pruebas con una población de estudio de 128 neonatos, todos ellos con factores de riesgo infeccioso; como ha sido nuestro caso al realizar estas pruebas con el grupo de sospecha de infección.

Para el grupo de estudio que desarrolló sepsis neonatal precoz, los resultados no fueron tan satisfactorios, probablemente debido, como ya hemos comentado en anteriores ocasiones, al reducido número de pacientes que componían este grupo.

Por último, en la actualidad se está trabajando en nuevas técnicas de biología molecular relacionadas con el período neonatal, además de numerosos estudios en sangre de cordón, como ya se ha revisado en el capítulo de la introducción.

Entre éstos, hay que destacar un reciente estudio (96) en el que se plantea el uso de la sangre de cordón como posible muestra biológica para realizar cultivos bacteriológicos con muy poca contaminación en el cribado de infección por SGB, aunque todavía se está considerando esta posibilidad, ya que debido al bajo rendimiento de los hemocultivos en el período neonatal, esta metodología de forma rutinaria necesitaría reconsiderarse.

Además, existen trabajos que estudian la presencia de otras citoquinas en sangre de cordón, en concreto la IL-8, donde se pudo observar que los valores de ésta variaba con la edad gestacional y con neonatos prematuros con una amplia variedad de patologías asociadas, encontrándose sus concentraciones aumentadas en comparación con neonatos a término (140), aunque los autores consideran que el efecto independiente de la edad gestacional sobre la respuesta neonatal de la IL-8 todavía tiene que evaluarse en profundidad.

Por último, es importante comentar que, por el momento, ninguno de los marcadores en sangre de cordón descritos en el presente trabajo es sensible y bastante específico para influir en la decisión de rechazar el tratamiento antimicrobiano, independientemente de las conclusiones clínicas (141), por lo que es necesario continuar estudiando el comportamiento de las citoquinas con un mayor número de sepsis neonatales precoces.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se pueden extraer de este estudio se enumeran a continuación:

1. Los marcadores bioquímicos de sepsis (PCR, PCT e IL-6) y hematológicos en sangre de cordón no han resultado de utilidad en el diagnóstico de sepsis neonatal precoz; los datos clínicos continúan siendo los más determinantes en el diagnóstico de sepsis neonatal precoz.

2. Los marcadores de sepsis en sangre de cordón ya son predictores respecto a las concentraciones de los mismos en sangre del recién nacido en las primeras horas de vida después del nacimiento.

3. La temperatura materna intraparto fue el factor de riesgo con mayor influencia sobre la IL-6 en la población total de estudio; y la rotura prematura de membranas respecto a la PCT en la población total del estudio, especialmente en los neonatos prematuros y en aquellos cuyo ingreso en la Sección de Neonatología no fue por causa de sospecha de infección.

4. No podemos afirmar que exista correspondencia entre los resultados obtenidos mediante técnicas de biología molecular en sangre de cordón y los microbiológicos confirmados mediante el hemocultivo tomada en las primeras horas de vida del neonato.

5. Las nuevas técnicas de biología molecular en sangre de cordón empleadas en este trabajo resultaron ventajosas respecto a una mayor rapidez en la detección de microorganismos patógenos y, aunque no tuvieron relación con los valores de los marcadores bioquímicos de sepsis en sangre de cordón, sí fueron indicativas de la presencia de sospecha de infección en aquellos neonatos con uno o varios factores de riesgo infeccioso.

6. Los puntos de corte establecidos para los marcadores bioquímicos de sepsis podrían tener utilidad clínica para decidir un posterior ingreso de los recién nacidos con uno o varios factores de riesgo infeccioso, aunque estos criterios de sospecha de infección pueden someterse permanentemente a controversia científica de su utilidad.

VII. BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Lam H.S., Ng P.C. *Biomarkers in neonatal infection*. *Biomark Med* **2007** Jun ;1 (1):133-43.
- (2) Ng P.C., Lam H.S. *Diagnostic markers for neonatal sepsis*. *Curr Opin Pediatr* **2006** Apr; 18 (2):125-31.
- (3) Hack C.E., Zeerleder S. *The endothelium in sepsis: source of and a target for inflammation*. *Crit Care Med* **2001** Jul; 29 (7 Suppl):S21-S27.
- (4) Opal S.M. *The uncertain value of the definition for SIRS. Systemic inflammatory response syndrome*. *Chest* **1998** Jun; 113 (6):1442-3.
- (5) Myatt L. *The physiologic basis of gynecology and obstetrics*. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins ed. **2000**.
- (6) Adamson S., Myatt L., Byrne B.M.P. *Fetal and neonatal physiology*. 2nd ed. Philadelphia ed. **1998**.
- (7) Akerman F., Lei Z.M., Rao C.V. *Human umbilical cord and fetal membranes co-express leptin and its receptor genes*. *Gynecol Endocrinol* **2002** Aug; 16 (4):299-306.
- (8) Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., et al. *Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis*. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* **1992** Jun; 101 (6):1644-55.
- (9) Bone R., Grodzin C., Balk R. *Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process*. *Chest* **1998**; 112:235-43.
- (10) Lopez Sastre J.B., Cotallo G.D., Ramos Aparicio M. *Sepsis Neonatal. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en Pediatría*. **2007**; 36:307-16.
- (11) Adair C.E., Kowalsky L., Quon H., Ma D., Stoffman J., McGeer A., et al. *Risk factors for early-onset group B streptococcal disease in neonates: a population-based case-control study*. *CMAJ* **2003** Aug 5; 169 (3):198-203.
- (12) López Sastre J.B., Pérez S.D. *Definitions of neonatal sepsis: a long way to go*. *An Pediatr (Barc)* **2006** Dec; 65 (6):525-8.

- (13) Vergnano S., Sharland M., Kazembe P., Mwansambo C., Heath P.T. *Neonatal sepsis: an international perspective*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed **2005** May; 90 (3):F220-F224.
- (14) López Sastre J.B., Coto C.D., Fernández C.B. *Neonatal sepsis of nosocomial origin: an epidemiological study from the "Grupo de Hospitales Castrillo"*. J Perinat Med **2002**; 30 (2):149-57.
- (15) Gibbs R.S., Schrag S., Schuchat A. *Perinatal infections due to group B streptococci*. Obstet Gynecol **2004** Nov; 104 (5 Pt 1):1062-76.
- (16) Edwards M.S., Baker C.J. *Group B streptococcal infections in elderly adults*. Clin Infect Dis **2005** Sep 15; 41 (6):839-47.
- (17) Tapia I.J., Reichhard T.C., Saldias R.M., Abarzua C.F., Perez A.M., Gonzalez M.A., et al. *Neonatal sepsis in the era of antenatal antibiotic prophylaxis*. Rev Chilena Infectol **2007** Apr; 24 (2):111-6.
- (18) Juncosa T., Bosch J., Dopico E., Guardia C., Lite J., Sierra M., et al. *Neonatal infection by Streptococcus agalactiae. Multicenter study in the area of Barcelona, Spain*. Enferm Infecc Microbiol Clin **1998** Aug; 16 (7):312-5.
- (19) Coto Cotallo G.D., Ibáñez Fernández A. *Protocolo diagnóstico-terapéutico de la sepsis neonatal*. Bol Pediatr **2006**; 46 (Suplem 1):125-34.
- (20) Schrag S.J., Zywicki S., Farley M.M., Reingold A.L., Harrison L.H., Lefkowitz L.B., et al. *Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis*. N Engl J Med **2000** Jan 6; 342 (1):15-20.
- (21) Schrag S., Gorwitz R., Fultz-Butts K., Schuchat A. *Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC*. MMWR Recomm Rep **2002** Aug 16; 51 (RR-11):1-22.
- (22) Duke T. *Neonatal pneumonia in developing countries*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed **2005** May; 90 (3):F211-F219.
- (23) Stoll B.J., Hansen N., Fanaroff A.A., Wright L.L., Carlo W.A., Ehrenkranz R.A., et al. *Late-onset sepsis in very low birth weight*

- neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network.* Pediatrics **2002** Aug; 110 (2 Pt 1):285-91.
- (24) Redline R.W. *Inflammatory responses in the placenta and umbilical cord.* Semin Fetal Neonatal Med **2006** Oct; 11 (5):296-301.
- (25) Hermansen M.C., Hermansen M.G. *Perinatal infections and cerebral palsy.* Clin Perinatol **2006** Jun; 33 (2):315-33.
- (26) Cabero R., Carrera M. *Riesgo elevado obstétrico. Rotura prematura de membranas.* Masson Ed. **2001**. p.33-42.
- (27) Klinger G., Levy I., Sirota L., Boyko V., Lerner-Geva L., Reichman B. *Outcome of early-onset sepsis in a national cohort of very low birth weight infants.* Pediatrics **2010** Apr; 125 (4):e736-e740.
- (28) Pinette M.G., Wax J.R., Blackstone J., Cartin A., McCrann D.J. *Culture-based group B streptococcal screening. Adherence to current guidelines.* J Reprod Med **2003** May; 48 (5):309-12.
- (29) Richards M.J., Edwards J.R., Culver D.H., Gaynes R.P. *Nosocomial infections in pediatric intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System.* Pediatrics **1999** Apr; 103 (4):e39.
- (30) Kurl S., Heinonen K.M., Kiekara O. *The first chest radiograph in neonates exhibiting respiratory distress at birth.* Clin Pediatr (Phila) **1997** May; 36 (5):285-9.
- (31) Cowett R.M., Loughhead J.L. *Neonatal glucose metabolism: differential diagnoses, evaluation, and treatment of hypoglycemia.* Neonatal Netw **2002** Jun; 21 (4):9-19.
- (32) Ramsey P.S., Nuthalapaty F.S., Lu G., Ramin S., Nuthalapaty E.S., Ramin K.D. *Contemporary management of preterm premature rupture of membranes (PPROM): a survey of maternal-fetal medicine providers.* Am J Obstet Gynecol **2004** Oct; 191 (4):1497-502.
- (33) Morbidity and mortality weekly report (MMWR). *Perinatal Group B Streptococcal Disease After Universal Screening Recommendations. United States 2003-2005.* Morb Mortal Wkly Rep **2007**; 56 (28):701-5.

- (34) Savitz D.A., Blackmore C.A., Thorp J.M. *Epidemiologic characteristics of preterm delivery: etiologic heterogeneity*. Am J Obstet Gynecol **1991** Feb; 164 (2):467-71.
- (35) Medina T.M., Hill D.A. *Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management*. Am Fam Physician **2006** Feb 15; 73 (4):659-64.
- (36) Cox S.M., Leveno K.J. *Intentional delivery versus expectant management with preterm ruptured membranes at 30-34 weeks' gestation*. Obstet Gynecol **1995** Dec; 86 (6):875-9.
- (37) Mercer B.M. *Preterm premature rupture of the membranes*. Obstet Gynecol **2003** Jan; 101 (1):178-93.
- (38) Gibbs R.S., Duff P. *Progress in pathogenesis and management of clinical intraamniotic infection*. Am J Obstet Gynecol **1991** May; 164 (5 Pt 1):1317-26.
- (39) Brady M.T. *Health care-associated infections in the neonatal intensive care unit*. Am J Infect Control **2005** Jun; 33 (5):268-75.
- (40) Romero R., Espinoza J., Gonzalves L.F., Kusanovic J.P., Friel L.A., Nien J.K. *Inflammation in preterm and term labour and delivery*. Semin Fetal Neonatal Med **2006** Oct; 11 (5):317-26.
- (41) Cornette L. *Fetal and neonatal inflammatory response and adverse outcome*. Seminars Fetal and Neonatal Medicine **2006**; 11:459-70.
- (42) López Sastre J.B., Fernández C.B., Coto Cotallo G.D., Ramos A.A. *Trends in the epidemiology of neonatal sepsis of vertical transmission in the era of group B streptococcal prevention*. Acta Paediatr **2005** Apr; 94 (4):451-7.
- (43) Parry S., Strauss J.F. *Premature rupture of the fetal membranes*. N Engl J Med **1998** Mar 5; 338 (10):663-70.
- (44) Andreu A., Sanfeliu I., Vinas L., Barranco M., Bosch J., Dopico E., et al. *Decreasing incidence of perinatal group B streptococcal disease (Barcelona 1994-2002). Relation with hospital prevention policies*. Enferm Infecc Microbiol Clin **2003** Apr; 21 (4):174-9.

- (45) Veleminsky M., Tosner J. *Relationship of vaginal microflora to PROM, pPROM and the risk of early-onset neonatal sepsis*. Neuro Endocrinol Lett **2008** Apr; 29 (2):205-21.
- (46) Lieberman E., Lang J.M., Frigoletto F., Jr., Richardson D.K., Ringer S.A., Cohen A. *Epidural analgesia, intrapartum fever, and neonatal sepsis evaluation*. Pediatrics **1997** Mar; 99 (3):415-9.
- (47) Chen K.T., Ringer S., Cohen A.P., Lieberman E. *The role of intrapartum fever in identifying asymptomatic term neonates with early-onset neonatal sepsis*. J Perinatol **2002** Dec; 22 (8):653-7.
- (48) Verani J.R., McGee L., Schrag S.J. *Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010*. MMWR Recomm Rep **2010** Nov 19 ;59 (RR-10):1-36.
- (49) Silbergeld E.K., Davis D.L. *Role of biomarkers in identifying and understanding environmentally induced disease*. Clin Chem **1994** Jul; 40 (7 Pt 2):1363-7.
- (50) Sheu J.R., Hung W.C., Wu C.H., Ma M.C., Kan Y.C., Lin C.H., et al. *Reduction in lipopolysaccharide-induced thrombocytopenia by triflavin in a rat model of septicemia*. Circulation **1999** Jun 15; 99 (23):3056-62.
- (51) Manroe B.L., Weinberg A.G., Rosenfeld C.R., Browne R. *The neonatal blood count in health and disease*. I. Reference values for neutrophilic cells. J Pediatr **1979** Jul; 95 (1):89-98.
- (52) Weber T.R., West K.W., Grosfeld J.L. *Broviac central venous catheterization in infants and children*. Am J Surg **1983** Feb; 145 (2):202-4.
- (53) Greenberg D.N., Yoder B.A. *Changes in the differential white blood cell count in screening for group B streptococcal sepsis*. Pediatr Infect Dis J **1990** Dec; 9 (12):886-9.
- (54) Chiesa C., Panero A., Rossi N., Stegagno M., De G.M., Osborn J.F., et al. *Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates*. Clin Infect Dis **1998** Mar; 26 (3):664-72.

- (55) Griffin M.P., Lake D.E., O'Shea T.M., Moorman J.R. *Heart rate characteristics and clinical signs in neonatal sepsis*. *Pediatr Res* **2007** Feb; 61 (2):222-7.
- (56) Bamonde L., Caamaño B., Alonso M. *La Procalcitonina como marcador de infección. Una revisión desde atención primaria*. *Rev ped de atención primaria* **2002**; 4 (16):617-30.
- (57) Hawk M. *C-reactive protein in neonatal sepsis*. *Neonatal Netw* **2008** Mar; 27 (2):117-20.
- (58) Santana R.C., García-Munoz F., Reyes D., González G., Domínguez C., Domenech E. *Role of cytokines (interleukin-1beta, 6, 8, tumour necrosis factor-alpha, and soluble receptor of interleukin-2) and C-reactive protein in the diagnosis of neonatal sepsis*. *Acta Paediatr* **2003**; 92 (2):221-7.
- (59) Chiesa C., Pellegrini G., Panero A., Osborn J.F., Signore F., Assumma M., et al. *C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection*. *Clin Chem* **2003** Jan; 49 (1):60-8.
- (60) Farmaki E., Evdoridou J., Pouliou T., Bibashi E., Panagopoulou P., Filioti J., et al. *Fungal colonization in the neonatal intensive care unit: risk factors, drug susceptibility, and association with invasive fungal infections*. *Am J Perinatol* **2007** Feb; 24 (2):127-35.
- (61) Peidró P., González de Dios J., Urán M., García B., de la Morena Campillo A., Mora M. *Utilidad de la Procalcitonina como prueba diagnóstica precoz de sepsis neonatal en recién nacidos con factores de riesgo de infección*. *An Pediatr (Barc)* **2007**; 67 (6):530-5.
- (62) Guibourdenche J., Bedu A., Petzold L., Marchand M., Mariani-Kurdjian P., Hurtaud-Roux M.F., et al. *Biochemical markers of neonatal sepsis: value of procalcitonin in the emergency setting*. *Ann Clin Biochem* **2002** Mar; 39 (Pt 2):130-5.
- (63) Monneret G., Labaune J.M., Isaac C., Bienvenu F., Putet G., Bienvenu J. *Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections*. *Acta Paediatr* **1997** Feb; 86 (2):209-12.

- (64) Harris M.C., D'Angio C.T., Gallagher P.R., Kaufman D., Evans J., Kilpatrick L. *Cytokine elaboration in critically ill infants with bacterial sepsis, necrotizing enterocolitis, or sepsis syndrome: correlation with clinical parameters of inflammation and mortality.* J Pediatr **2005** Oct; 147 (4):462-8.
- (65) Satar M., Turhan E., Yapicioglu H., Narli N., Ozgunen F.T., Cetiner S. *Cord blood cytokine levels in neonates born to mothers with prolonged premature rupture of membranes and its relationship with morbidity and mortality.* Eur Cytokine Netw **2008** Mar; 19 (1):37-41.
- (66) Volante E., Moretti S., Pisani F., Bevilacqua G. *Early diagnosis of bacterial infection in the neonate.* J Matern Fetal Neonatal Med **2004** Nov; 16 Suppl 2:13-6.
- (67) Chiesa C., Pellegrini G., Panero A., De L.T., Assumma M., Signore F., et al. *Umbilical cord interleukin-6 levels are elevated in term neonates with perinatal asphyxia.* Eur J Clin Invest **2003** Apr; 33 (4):352-8.
- (68) Courdec R., Mary R., Veinberg F. *Marcadores de inflamación en pediatría.* Acta Bioquím Clín Latinoam **2004**; 38:513-17.
- (69) Yoon B.H., Romero R., Shim J.Y., Shim S.S., Kim C.J., Jun J.K. *C-reactive protein in umbilical cord blood: a simple and widely available clinical method to assess the risk of amniotic fluid infection and funisitis.* J Matern Fetal Neonatal Med **2003** Aug; 14 (2):85-90.
- (70) Dollner H., Vatten L., Austgulen R. *Early diagnostic markers for neonatal sepsis: comparing C-reactive protein, interleukin-6, soluble tumour necrosis factor receptors and soluble adhesion molecules.* J Clin Epidemiol **2001** Dec; 54 (12):1251-7.
- (71) Joram N., Boscher C., Denizot S., Loubersac V., Winer N., Roze J.C., et al. *Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of very early onset neonatal infection.* Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed **2006** Jan; 91 (1):F65-F66.
- (72) Khassawneh M., Hayajneh W.A., Kofahi H., Khader Y., Amarin Z., Daoud A. *Diagnostic markers for neonatal sepsis: comparing C-reactive*

- protein, interleukin-6 and immunoglobulin M. Scand J Immunol* **2007** Feb; 65 (2):171-5.
- (73) Perafán M. *Fisiopatología de la sepsis. Tópicos en Medicina Intensiva*. 3. **2003**. p. 71-9.
- (74) Hatzidaki E., Gourgiotis D., Manoura A., Korakaki E., Bossios A., Galanakis E., et al. *Interleukin-6 in preterm premature rupture of membranes as an indicator of neonatal outcome. Acta Obstet Gynecol Scand* **2005** Jul; 84 (7):632-8.
- (75) Weitkamp J., Ascher J. *Diagnostic use of PCR in assessment of neonatal sepsis. Neoreviews* Ed. **2005**. p. e508-e514.
- (76) Campos D.P., Silva M.V., Machado J.R., Castellano L.R., Rodrigues V., Barata C.H. *Early-onset neonatal sepsis: cord blood cytokine levels at diagnosis and during treatment. J Pediatr (Rio J)* **2010** Nov; 86 (6):509-14.
- (77) Santana C., Guindeo M.C., Gonzalez G., García-Muñoz F., Saavedra P., Domenech E. *Cord blood levels of cytokines as predictors of early neonatal sepsis. Acta Paediatr* **2001** Oct; 90 (10):1176-81.
- (78) Cernada M., Badia N., Modesto V., Alonso R., Mejias A., Golombek S., et al. *Cord blood interleukin-6 as a predictor of early-onset neonatal sepsis. Acta Paediatr* **2011** Dec 24.
- (79) *Molecular identification of bacteria involved in neonatal sepsis by the reaction of the polymerase chain.* **2010**. Roche diagnostics.
- (80) Dark P.M., Dean P., Warhurst G. *Bench-to-bedside review: the promise of rapid infection diagnosis during sepsis using polymerase chain reaction-based pathogen detection. Crit Care* **2009**; 13 (4):217.
- (81) Lehmann L.E., Alvarez J., Hunfeld K.P., Goglio A., Kost G.J., Louie R.F., et al. *Potential clinical utility of polymerase chain reaction in microbiological testing for sepsis. Crit Care Med* **2009** Dec; 37 (12):3085-90.
- (82) Regueiro B.J., Varela-Ledo E., Martínez-Lamas L., Rodríguez-Calvino J., Aguilera A., Santos A., et al. *Automated extraction improves*

- multiplex molecular detection of infection in septic patients*. PLoS One **2010**; 5 (10):e13387.
- (83) Brozanski B.S., Jones J.G., Krohn M.J., Jordan J.A. *Use of polymerase chain reaction as a diagnostic tool for neonatal sepsis can result in a decrease in use of antibiotics and total neonatal intensive care unit length of stay*. J Perinatol **2006** Nov; 26 (11):688-92.
- (84) Philip A.G., Hewitt J.R. *Early diagnosis of neonatal sepsis*. Pediatrics **1980** May; 65 (5):1036-41.
- (85) Cleven B.E., Palka-Santini M., Gielen J., Meembor S., Kronke M., Krut O. *Identification and characterization of bacterial pathogens causing bloodstream infections by DNA microarray*. J Clin Microbiol **2006** Jul; 44 (7):2389-97.
- (86) Shang S., Chen G., Wu Y., DU L., Zhao Z. *Rapid diagnosis of bacterial sepsis with PCR amplification and microarray hybridization in 16S rRNA gene*. Pediatr Res **2005** Jul; 58 (1):143-8.
- (87) Tissari P., Zumla A., Tarkka E., Mero S., Savolainen L., Vaara M., et al. *Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study*. Lancet **2010** Jan 16; 375 (9710):224-30.
- (88) Baker C.J., Byington C.L., Polin R.A. *Policy statement-Recommendations for the prevention of perinatal group B streptococcal (GBS) disease*. Pediatrics **2011** Sep; 128 (3):611-6.
- (89) Miguel D., Prieto B., Costa M., Coto D., Alvarez F.V. *Cord blood plasma reference intervals for potential sepsis markers: pro-adrenomedullin, pro-endothelin, and pro-atrial natriuretic peptide*. Clin Biochem **2011** Mar; 44 (4):337-41.
- (90) Cancelier A.C., Petronilho F., Reinke A., Constantino L., Machado R., Ritter C., et al. *Inflammatory and oxidative parameters in cord blood as diagnostic of early-onset neonatal sepsis: a case-control study*. Pediatr Crit Care Med **2009** Jul; 10 (4):467-71.
- (91) Bertagnon J.R., de Mattos Segre C.A., Il Colletto G.M. *Weight-for-length relationship at birth to predict neonatal diseases*. Sao Paulo Med J **2003** Jul 1; 121 (4):149-54.

- (92) Stoll B.J., Hansen N.I., Bell E.F., Shankaran S., Laptook A.R., Walsh M.C., et al. *Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network*. Pediatrics **2010** Sep; 126 (3):443-56.
- (93) Mussap M., Molinari M.P., Senno E., Gritti P., Soro B., Mannelli S., et al. *New diagnostic tools for neonatal sepsis: the role of a real-time polymerase chain reaction for the early detection and identification of bacterial and fungal species in blood samples*. J Chemother **2007** Oct; 19 Suppl 2:31-4.
- (94) Jiang J.H., Chiu N.C., Huang F.Y., Kao H.A., Hsu C.H., Hung H.Y., et al. *Neonatal sepsis in the neonatal intensive care unit: characteristics of early versus late onset*. J Microbiol Immunol Infect **2004** Oct; 37 (5):301-6.
- (95) Rodwell R.L., Leslie A.L., Tudehope D.I. *Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system*. J Pediatr **1988** May; 112 (5):761-7.
- (96) Beeram M.R., Loughran C., Cipriani C., Govande V. *Utilization of umbilical cord blood for the evaluation of group B streptococcal sepsis screening*. Clin Pediatr (Phila) **2012** May; 51 (5):447-53.
- (97) Weston E.J., Pondo T., Lewis M.M., Martell-Cleary P., Morin C., Jewell B., et al. *The burden of invasive early-onset neonatal sepsis in the United States, 2005-2008*. Pediatr Infect Dis J **2011** Nov; 30 (11):937-41.
- (98) Van Dyke M.K., Phares C.R., Lynfield R., Thomas A.R., Arnold K.E., Craig A.S., et al. *Evaluation of universal antenatal screening for group B streptococcus*. N Engl J Med **2009** Jun 18; 360 (25):2626-36.
- (99) Moore M.R., Schrag S.J., Schuchat A. *Effects of intrapartum antimicrobial prophylaxis for prevention of group-B-streptococcal disease on the incidence and ecology of early-onset neonatal sepsis*. Lancet Infect Dis **2003** Apr; 3 (4):201-13.
- (100) Asrat T. *Intra-amniotic infection in patients with preterm prelabor rupture of membranes. Pathophysiology, detection, and management*. Clin Perinatol **2001** Dec; 28 (4):735-51.

- (101) Kilbride H.W., Thibeault D.W. *Neonatal complications of preterm premature rupture of membranes. Pathophysiology and management.* Clin Perinatol **2001** Dec; 28 (4):761-85.
- (102) Torbe A. *Maternal plasma procalcitonin concentrations in pregnancy complicated by preterm premature rupture of membranes.* Mediators Inflamm **2007**; 2007:35782.
- (103) Goepfert A.R., Andrews W.W., Carlo W., Ramsey P.S., Cliver S.P., Goldenberg R.L., et al. *Umbilical cord plasma interleukin-6 concentrations in preterm infants and risk of neonatal morbidity.* Am J Obstet Gynecol **2004** Oct; 191 (4):1375-81.
- (104) Greenwell E.A., Wyshak G., Ringer S.A., Johnson L.C., Rivkin M.J., Lieberman E. *Intrapartum temperature elevation, epidural use, and adverse outcome in term infants.* Pediatrics **2012** Feb; 129 (2):e447-e454.
- (105) Mathai E., Christopher U., Mathai M., Jana A.K., Rose D., Bergstrom S. *Is C-reactive protein level useful in differentiating infected from uninfected neonates among those at risk of infection?* Indian Pediatr **2004** Sep; 41 (9):895-900.
- (106) Agakidis C., Agakidou E., Philip T.S., Murthy P., John L.D. *Labor epidural analgesia is independent risk factor for neonatal pyrexia.* J Matern Fetal Neonatal Med **2011** Sep; 24 (9):1128-32.
- (107) Dollner H., Vatten L., Linnebo I., Zanussi G.F., Laerdal A., Austgulen R. *Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis.* Biol Neonate **2001** Jul; 80 (1):41-7.
- (108) Krueger M., Nauck M.S., Sang S., Hentschel R., Wieland H., Berner R. *Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants.* Biol Neonate **2001** Aug; 80 (2):118-23.
- (109) Duncombe G., Veldhuizen R.A., Gratton R.J., Han V.K., Richardson B.S. *IL-6 and TNFalpha across the umbilical circulation in term pregnancies: relationship with labour events.* Early Hum Dev **2010** Feb; 86 (2):113-7.

- (110) Chiesa C., Signore F., Assumma M., Buffone E., Tramontozzi P., Osborn J.F., et al. *Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders*. Clin Chem **2001** Jun; 47 (6):1016-22.
- (111) Protonotariou E., Malamitsi-Puchner A., Giannaki G., Rizos D., Phocas I., Sarandakou A. *Patterns of inflammatory cytokine serum concentrations during the perinatal period*. Early Hum Dev 1999 Sep; 56 (1):31-8.
- (112) Tasci Y., Dilbaz B., Uzmez O.B., Caliskan E., Dilbaz S., Doganci L., et al. *The value of cord blood interleukin-6 levels for predicting chorioamnionitis, funisitis and neonatal infection in term premature rupture of membranes*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **2006** Sep; 128 (1-2):34-9.
- (113) Procianoy R.S., Silveira R.C. *The role of sample collection timing on interleukin-6 levels in early-onset neonatal sepsis*. J Pediatr (Rio J) **2004** Sep; 80 (5):407-10.
- (114) Heches X., Pignol M., Van Ditzhuyzen O., Koffi B. *Interleukin-6 or Interleukin-8? Aid to early diagnosis of bacterial infection of newborns within 12 hours of life*. Immunoanal Biol Spéc **2000**; (15):346-53.
- (115) Wirbelauer J., Seidenspinner S., Thomas W., Kunzmann S., Speer C.P. *Funisitis is associated with increased interleukin-10 gene expression in cord blood mononuclear cells in preterm infants ≤ 32 weeks of gestation*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **2011** Mar; 155 (1):31-5.
- (116) Lehmann L.E., Hunfeld K.P., Steinbrucker M., Brade V., Book M., Seifert H., et al. *Improved detection of blood stream pathogens by real-time PCR in severe sepsis*. Intensive Care Med **2010** Jan; 36 (1):49-56.
- (117) Varani S., Stanzani M., Nardi L., Paolucci M., Vianelli N., Baccarani M. *Comparison of real-time PCR and blood culture for the diagnosis of bloodstream infections in onco-haematologic patients: microbiological and clinical assessment*. Clin Microbiol Infect **2007** ;13:s393.
- (118) Wellinghausen N., Wirths B., Franz A.R., Karolyi L., Marre R., Reischl U. *Algorithm for the identification of bacterial pathogens in*

- positive blood cultures by real-time LightCycler polymerase chain reaction (PCR) with sequence-specific probes. Diagn Microbiol Infect Dis* **2004** Apr; 48 (4):229-41.
- (119) Schibler K.R., Liechty K.W., White W.L., Rothstein G., Christensen R.D. *Defective production of interleukin-6 by monocytes: a possible mechanism underlying several host defense deficiencies of neonates. Pediatr Res* **1992** Jan; 31 (1):18-21.
- (120) Yachie A., Takano N., Ohta K., Uehara T., Fujita S., Miyawaki T., et al. *Defective production of interleukin-6 in very small premature infants in response to bacterial pathogens. Infect Immun* **1992** Mar; 60 (3):749-53.
- (121) Miller L.C., Isa S., LoPreste G., Schaller J.G., Dinarello C.A. *Neonatal interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor: cord blood levels and cellular production. J Pediatr* **1990** Dec; 117 (6):961-5.
- (122) Smulian J.C., Bhandari V., Campbell W.A., Rodis J.F., Vintzileos A.M. *Value of umbilical artery and vein levels of interleukin-6 and soluble intracellular adhesion molecule-1 as predictors of neonatal hematologic indices and suspected early sepsis. J Matern Fetal Med* **1997** Sep; 6 (5):254-9.
- (123) Lehrnbecher T., Schrod L., Kraus D., Roos T., Martius J., von Stockhausen H.B. *Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor in cord blood in the diagnosis of early onset sepsis in neonates. Acta Paediatr* **1995** Jul; 84 (7):806-8.
- (124) Messer J., Eyer D., Donato L., Gallati H., Matis J., Simeoni U. *Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. J Pediatr* **1996** Oct; 129 (4):574-80.
- (125) Hanley J.A., McNeil B.J. *The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology* **1982** Apr; 143 (1):29-36.
- (126) Burgueño M.J., García-Bastos J.L., González-Buitrago J.M. *ROC curves in the evaluation of diagnostic tests. Med Clin (Barc)* **1995** May 6; 104 (17):661-70.

- (127) Zweig M.H., Campbell G. *Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine*. Clin Chem **1993** Apr; 39 (4):561-77.
- (128) Kordek A., Halasa M., Podraza W. *Early detection of an early onset infection in the neonate based on measurements of procalcitonin and C-reactive protein concentrations in cord blood*. Clin Chem Lab Med **2008**; 46 (8):1143-8.
- (129) Joram N., Muller J.B., Denizot S., Orsonneau J.L., Caillon J., Roze J.C., et al. *Umbilical cord blood procalcitonin level in early neonatal infections: a 4-year university hospital cohort study*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis **2011** Aug; 30 (8):1005-13.
- (130) López Sastre J.B., Solis D.P., Serradilla V.R., Colomer B.F., Cotallo G.D. *Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission*. BMC Pediatr **2007**; 7:9.
- (131) Ng P.C., Lee C.H., Fok T.F., Chui K., Wong W., Cheung K.L., et al. *Central nervous system candidiasis in preterm infants: limited value of biochemical markers for diagnosis*. J Paediatr Child Health **2000** Oct; 36 (5):509-10.
- (132) Chiesa C., Natale F., Pascone R., Osborn J.F., Pacifico L., Bonci E., et al. *C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period*. Clin Chim Acta **2011** May 12; 412 (11-12):1053-9.
- (133) Hofer N., Muller W., Resch B. *Non-infectious conditions and gestational age influence C-reactive protein values in newborns during the first 3 days of life*. Clin Chem Lab Med **2011** Feb; 49 (2):297-302.
- (134) Stocker M., Hop W.C., van Rossum A.M. *Neonatal Procalcitonin Intervention Study (NeoPInS): Effect of Procalcitonin-guided decision making on duration of antibiotic therapy in suspected neonatal early-onset sepsis: A multi-centre randomized superiority and non-inferiority Intervention Study*. BMC Pediatr **2010**; 10:89.
- (135) Kordek A., Torbe A., Czajka R. *Maternal venous procalcitonin levels do not correlate with umbilical cord blood and venous blood concentrations in the neonate*. J Perinat Med **2006**; 34 (6):462-5.

- (136) Assumma M., Signore F., Pacifico L., Rossi N., Osborn J.F., Chiesa C. *Serum procalcitonin concentrations in term delivering mothers and their healthy offspring: a longitudinal study*. Clin Chem **2000** Oct; 46 (10):1583-7.
- (137) Llorente E., Prieto B., Cardo L., Avello N., Alvarez F.V. *Umbilical cord blood serum procalcitonin by Time-Resolved Amplified Cryptate Emission (TRACE) technology: reference values of a potential marker of vertically transmitted neonatal sepsis*. Clin Chem Lab Med **2007**; 45 (11):1531-5.
- (138) Stocker M., Fontana M., El H.S., Wegscheider K., Berger T.M. *Use of procalcitonin-guided decision-making to shorten antibiotic therapy in suspected neonatal early-onset sepsis: prospective randomized intervention trial*. Neonatology **2010**; 97 (2):165-74.
- (139) Turner D., Hammerman C., Rudensky B., Schlesinger Y., Goia C., Schimmel M.S. *Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed **2006** Jul; 91 (4):F283-F286.
- (140) Matoba N., Yu Y., Mestan K., Pearson C., Ortiz K., Porta N., et al. *Differential patterns of 27 cord blood immune biomarkers across gestational age*. Pediatrics **2009** May; 123 (5):1320-8.
- (141) Hofer N., Zacharias E., Muller W., Resch B. *An Update on the Use of C-Reactive Protein in Early-Onset Neonatal Sepsis: Current Insights and New Tasks*. Neonatology **2012** Apr 11; 102 (1):25-36.

