

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia en pacientes procedentes del laboratorio del Hospital de Clínicas Caracas

Cecilia Varnagy Gabay ¹, Noel Silva D.², Nirsén García ², José Luis Bello ¹, Samuel Malka Abbo ³, Ana Monzón de Orozco ⁴

RESUMEN

La sepsis es una enfermedad severa que puede afectar a cualquier miembro de la población, causando graves consecuencias e incluso la muerte si no es tratada a tiempo. Está presente en un alto porcentaje en la población mundial y es la causa de muerte #23 en nuestro país, por ésta razón es de gran relevancia hacer un diagnóstico rápido y seguro de la enfermedad y así proporcionar tratamiento a la población afectada. El objetivo de este estudio fue determinar la sensibilidad, especificidad y exactitud de BRAHMS PCT®-Q, siendo éste una prueba para determinación de niveles de procalcitonina en sangre de manera semicuantitativa, para el diagnóstico precoz de sepsis y comparándolo con los resultados obtenidos por el hemocultivo y la impresión diagnóstica médica, siendo ésta última la prueba de referencia para el diagnóstico de sepsis bacteriana. A partir de esto establecer la utilidad, así como los beneficios de una marcador de sepsis como la BRAHMS PCT®-Q en nuestro país. Para lograr esto se utilizó muestras de 102 pacientes que asistieron al Hospital de Clínicas Caracas, cuya sintomatología indicó que era recomendable realizar hemocultivo y determinación de procalcitonina. A estos pacientes se les hizo una toma de muestra para hemocultivo y en la misma punción se tomó una muestra de sangre sin anticoagulante. El hemocultivo fue procesado por el servicio de Bacteriología del Laboratorio del Hospital de Clínicas Caracas y el suero se utilizó para la determinación de procalcitonina. Una vez obtenidos ambos resultados se cotejaron y compararon. A partir de los datos obtenidos se pudo concluir que la sensibilidad de BRAHMS PCT®-Q es mayor al 80%, la especificidad es de 90% y presenta una exactitud de 90%. Por lo tanto es una prueba que puede ser utilizada para el diagnóstico precoz de sepsis, pero es aún más recomendada para el descarte de ésta. Es de gran ventaja el uso de ésta prueba en nuestro país, sobre todo, en poblaciones remotas donde no poseen los medios para un mejor diagnóstico y donde es requerido obtener resultados en cortos períodos de tiempo.

Palabras clave: Sepsis bacteriana, procalcitonina, hemocultivo.

Study of the BRAHMS PCT®-Q assay for the early diagnosis of sepsis caused by bacteremia in patients of the laboratory of the Hospital de Clínicas Caracas

SUMMARY

Sepsis is a serious disease that may affect any member of the population and can have important consequences, including death, if not treated in time. It is present in a high percentage of the World population and is the 23rd cause of death in our country; it is therefore extremely relevant to diagnose the disease quickly and reliably and thus provide treatment to the affected population. The objective of this study consisted in determining the sensitivity, specificity and accuracy of the BRAHMS PCT®-Q, as a test to determine the levels of blood procalcitonin in a semi-quantitative manner for the early diagnosis of sepsis and comparing it with the results of the blood culture and medical impression, which is the benchmark test for the diagnosis of bacterial sepsis. And based on this, to establish the usefulness, as well as the benefits, of a sepsis marker, such as the BRAHMS PCT®-Q, in our country. To do so, samples of 102 patients, who visited the Hospital de Clínicas Caracas, were used; their symptomatology indicated that it was advisable to conduct a blood culture and determine procalcitonin. Of these patients a sample was taken for the blood culture, and with the same puncture a blood sample was taken without anticoagulant. The blood culture was processed using the services of the Bacteriological Department of the Hospital de Clínicas Caracas, and the serum was used to determine procalcitonin. Once both results were in, they were cross-tabulated and compared. Based on the data that was obtained, it could be concluded that the sensitivity of BRAHMS PCT®-Q is greater than 80%, its specificity is 90% which represents an accuracy of 90%. It is therefore a test that can be used for the early diagnosis of sepsis, but it is even more recommended to rule out the same. It is extremely advantageous to use this test in our country, above all, in remote populations that do not possess the means for a better diagnosis, and where it is needful to obtain results in short periods of time.

Key words: Bacterial sepsis, procalcitonin, blood culture.

1. Laboratorio Hospital de Clínicas Caracas.

2. Laboratorio de Producción y Control de Calidad Corpodiaagnostica C.A.

3. Servicio de Emergencia Pediátrica del Hospital de Clínicas Caracas.

4. Instituto de Oncología y Hematología Universidad Central de Venezuela.

Introducción

La sepsis es una enfermedad severa que puede afectar a cualquier miembro de la población, causando graves consecuencias e incluso la muerte si no es tratada a tiempo.

La sepsis está presente en un alto porcentaje en la población mundial y es la causa de muerte #23 en nuestro país, por ésta razón es de gran relevancia hacer un diagnóstico rápido y seguro de la enfermedad y así proporcionar tratamiento a la población afectada (1).

El método más común de diagnóstico actualmente es el hemocultivo. La principal desventaja de este método es que los resultados pueden tardar hasta una semana. Debido a lo imperativo de iniciar el tratamiento lo más pronto posible sería de gran beneficio contar con un método diagnóstico más rápido y específico.

La presencia de procalcitonina en sangre es indicativo de infección bacteriana en el torrente sanguíneo y la BRAHMS PCT®-Q permite detectar rápidamente (30 minutos) y de manera semicuantitativa, los niveles de procalcitonina en sangre, para así diagnosticar un cuadro de SIRS debido a sepsis (2).

Este trabajo pretende evaluar la efectividad y eficiencia de la prueba BRAHMS PCT®-Q para el diagnóstico de sepsis a través de la comparación de sus resultados con el hemocultivo y la impresión diagnóstica, este último considerado como el método actual de referencia.

Como una ventaja adicional, la prueba BRAHMS PCT®-Q dado su sencillez (ya que no requiere complejos y costosos equipos) en comparación con el hemocultivo, es que podría abaratar los costos de diagnóstico de sepsis. Aunque la prueba no es económica, es más accesible a la población donde la infraestructura hospitalaria es limitada, pudiéndose incluso puede realizarse en poblaciones remotas del país, donde no cuentan con complejos equipos.

En ésta investigación se trata de estimar con determinaciones de procalcitonina mediante el método de BRAHMS PCT®-Q, la sensibilidad y especificidad de ésta prueba, comparándola con los resultados obtenidos en los hemocultivos procesados por el BacT/Alert Blood Culture System, que es un equipo de monitoreo continuo creado en Estados Unidos por Industrias BioMérieux y la impresión diagnóstica de los médicos de la institución.

Debido a que la sepsis es una enfermedad que puede afectar a cualquier miembro de la población de nuestro país, sin importar sexo, edad o nivel socioeconómico y considerando que es una enfermedad de difícil y lento diagnóstico a partir de

hemocultivos únicamente y una gran proporción de ellos muestran resultados negativos, es importante poder acceder a otros medios que nos ayuden a diagnosticar, tratar y hacer seguimiento de esta enfermedad. Por esta razón es válido evaluar nuevas pruebas como el BRAHMS PCT®-Q para el diagnóstico de sepsis de forma más rápida y con un alto nivel de especificidad y sensibilidad para poder implementar tratamiento de inmediato ante la ocurrencia de dicha patología.

Basados en estos hallazgos nos propusimos:

1. Determinar la sensibilidad y especificidad de BRAHMS PCT®-Q, comparándolo con los resultados obtenidos en los hemocultivos y la impresión diagnóstica de los médicos tratantes.
2. Correlacionar la edad y sexo de los pacientes con los resultados de BRAHMS PCT®-Q y el hemocultivo para conocer la prevalencia de sepsis en la comunidad que asiste al Hospital de Clínicas Caracas.

La sepsis, también conocida como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), es una enfermedad severa causada por la infección del sistema sanguíneo por algún microorganismo, a saber: parásitos, virus, hongos o bacterias (3). La sepsis pudiese ser de carácter reversible, si se diagnostica tempranamente, pero de no ser así se puede llegar a un shock séptico, el cual se caracteriza por el daño y disfunción de algunos órganos vitales y conduce a la muerte del individuo (3).

En el presente trabajo se enfoca la sepsis que es causada por agentes etiológicos bacterianos exclusivamente, introduciendo este término como definición operativa para el presente estudio, pudiéndose encontrar escrito “sepsis” o “sepsis bacteriana” indistintamente.

Causas de sepsis

Generalmente, la sepsis es causada por una infección bacteriana (principalmente por los clasificados como “Gram negativo”) originada en cualquier parte del cuerpo (infección primaria), donde el sistema inmune no pudo controlar la infección y evitar la diseminación. Los sitios más comunes de infección primaria son: riñón (infección del tracto urinario), hígado o vesícula biliar, apéndice (peritonitis), piel (celulitis), pulmón (neumonía bacteriana), líquido cefalorraquídeo (meningitis), y otros.

En pacientes hospitalizados algunos sitios comunes de infección son: Vías intravenosas, heridas, drenajes quirúrgicos, y otros.

Población susceptible a sepsis

La población más susceptible a contraer sepsis son:

- Personas en edades extremas (muy joven o muy viejo) debido al pobre desarrollo ó envejecimiento, respectiva-



mente del sistema inmune.

- Pacientes con enfermedades inmunodeficientes.
- Pacientes hospitalizados y posquirúrgicos en unidad de cuidados intensivos.
- Personas con infecciones preexistentes a consecuencia de quemaduras o heridas de bala.
- Personas con tendencia genética a sepsis.

Incidencia de sepsis

La incidencia de la sepsis a nivel mundial es muy importante. Hasta 1999 se reportaron 1.500.000 casos al año en el mundo y se espera que el número aumente con el paso de los años (1).

Prevalencia en Venezuela

En los últimos datos epidemiológicos reportados en Venezuela en el anuario de epidemiología y estadística vital del año 1995. La sepsis es la causa número 23 de mortalidad a nivel nacional habiendo una mayor prevalencia en el estado Zulia (16.3%), siguiéndolo el Distrito Federal (15.6%) y Miranda (14.5%) (4). Por otro lado es la 8va causa de muerte infantil y la 11ava en menores de 28 días de nacido (4). La incidencia es mayor en el sexo masculino que en el femenino independientemente de la edad (4).

Por otro lado en Estados Unidos se registran más de 700.000 casos al año de sepsis severa. Aproximadamente dos tercios (2/3) de los casos de sepsis ocurren en pacientes hospitalizados (3).

A manera resumida, podemos esquematizar el proceso de sepsis de la siguiente manera:

- la infección,
- liberación de las endotoxinas y otros productos de origen bacteriano,
- liberación de los mediadores de la inflamación (ej. Citoquinas),
- sepsis con o sin fallas en múltiples órganos,
- síndrome séptico con o sin fallas en múltiples órganos,
- shock séptico con o sin fallas en múltiples órganos,
- recuperación o muerte.

Una vez conocida esta información en referencia a la sepsis, es importante conocer lo que es la Procalcitonina (PCT), su función y comportamiento en la presencia de sepsis (2).

Procalcitonina

La Procalcitonina es una proteína de 116 aminoácidos que comparte una secuencia idéntica de 32 aminoácidos con la calcitonina, la cual es una prohormona, y es su precursor (7-2).

En condiciones normales, la calcitonina que es hormonalmente activa es producida y secretada por las células C de la glándula tiroidea, después de la proteólisis intracelular de la procalcitonina a calcitonina, kalcina y un residuo N-terminal. Normalmente toda la procalcitonina es clivada y no es liberada a la sangre, por lo tanto los niveles de procalcitonina son indetectables (<0.1 ng/ml) en humanos normales. Sin embargo en presencia de infecciones severas con manifestaciones sistémicas, los niveles de procalcitonina pueden llegar a aumentar por encima de 100 ng/ml. En estos casos no se observa aumento en los niveles de calcitonina en plasma, ni actividad de la misma. A manera comparativa la vida media de la calcitonina es de 10 minutos y la de la procalcitonina es de 25 a 30 horas. La procalcitonina en el plasma es muy estable y no es degradada a calcitonina hormonalmente activa (2-7).

Concentraciones esperadas en suero

Niveles elevados de procalcitonina indican infección bacteriana acompañada por una respuesta inflamatoria sistémica. La producción de procalcitonina puede ser inducida por endotoxinas bacterianas, exotoxinas y citoquinas. En algunos pacientes con malaria e infecciones sistémicas de origen fúngico también se pueden presentar altos niveles de procalcitonina (2-7-9).

Procalcitonina en neonatos y prematuros

Es importante conocer además que los valores de procalcitonina normales esperados en neonatos y bebés prematuros, son totalmente diferentes al de los adultos. Fisiológicamente hay aumento de los niveles de procalcitonina en los primeros días de vida. Los rangos de valores para los primeros 2 días de vida cambian en horas y se usan los rangos de adulto después de 3 días de nacido (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de referencia de procalcitonina en neonatos y prematuros (25).

Edad en horas	PCT [ng/ml]
0-6	2
6-12	8
12-18	15
18-30	21
30-36	15
36-42	8
42-48	2

Variedad de autores han concluido que independientemente de estos valores, la sensibilidad y especificidad de procalcitonina en el diagnóstico de sepsis es del 100%, tomando en cuenta estos rangos de referencia para comparar (2).

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia

En neonatos que presentan una infección, se observa un aumento importante de la concentración de procalcitonina, sin importar si la enfermedad inicia en las primeras 48 horas de vida o después.

Materiales y métodos

Población en estudio

Se evaluaron un total de 102 muestras de sangre venosa de pacientes del Laboratorio del Hospital de Clínicas Caracas.

Recolección e identificación de muestras de sangre

La sangre de los pacientes sospechosos de presentar una sepsis, fue recolectada en tubos sin anticoagulante al momento de la toma de muestra para el hemocultivo. Estas fueron debidamente identificadas con nombre, edad, sexo del paciente y fecha de recolección.

Transporte y preservación de la muestra

Las muestras fueron centrifugadas y separadas en el laboratorio del Hospital de Clínicas Caracas. Los sueros identificados y refrigerados inmediatamente. Se recogieron los sueros y fueron transportadas al laboratorio de producción y control de calidad en una cava refrigerada (2-8 grados centígrados) y preservadas en un congelador a -20 grados centígrados hasta el momento de su procesamiento.

Procesamiento de las muestras

Las muestras fueron descongeladas y procesadas por el método de BRAHMS PCT®. Esta es una prueba de tipo semicuantitativa que nos permite tener una concentración aproximada de procalcitonina, además se puede obtener estos valores a manera rápida ya que presenta solo 30 minutos de incubación. Otras ventajas que esta prueba presenta es que se puede realizar en cualquier lugar y a relativo bajo costo.

La lectura de la prueba es suficientemente precisa para el diagnóstico de sepsis aguda así como otros diagnósticos y propósitos terapéuticos (2).

Se puede distinguir entre un paciente normal y con valores elevados, con un rango límite de 0.5 ng/ml, así como entre ligera y marcadamente elevado (2 a 10 ng/ml).

El kit que es usado solo para pruebas *In vitro* contiene:

- 25 pruebas individuales
- 25 tarjetas de referencia
- 1 manual de instrucciones

Cada prueba individual presenta

- 1 prueba
- 1 pipeta plástica desechable
- 1 bolsa antihumedad

Este kit debe ser guardado en las bolsas individuales sin abrir entre 4 y 30 grados centígrados.

Técnica de medición (25)

BRAHMS PCT®-Q es una prueba de inmunocromatografía para la detección semicuantitativa de procalcitonina. No necesita calibración ni equipos complicados y se puede usar suero o plasma.

La prueba usa un anticuerpo monoclonal de ratón anti-calcitonina conjugado con oro coloidal (marcador) y un anticuerpo policlonal anti-calcitonina de oveja, siendo esta la fase sólida.

Se debe tomar la muestra del paciente y centrifugar, tomar con la pipeta plástica la muestra, ya sea suero o plasma y colocar 6 gotas, que es correspondiente a 300 µl aproximadamente, colocar en la cavidad redonda y dejarlo incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Una vez colocada la muestra, ésta migra por el soporte inmunocromatográfico, el marcador se une a la procalcitonina presente en la muestra y marca el complejo antígeno-anticuerpo que se forma. Este complejo se moviliza por capilaridad a través del sistema y en el proceso pasa a través de la línea de prueba, donde el complejo marcado antígeno-anticuerpo se une a los anticuerpos de anti-procalcitonina y forma un complejo tipo sándwich, evidenciándose de manera macroscópica por una línea rosada, donde la intensidad de esta es directamente proporcional a la concentración de procalcitonina presente en la muestra y esta es relacionada a los rangos de la concentración, con ayuda de la tarjeta de referencia (2) (Figura1).

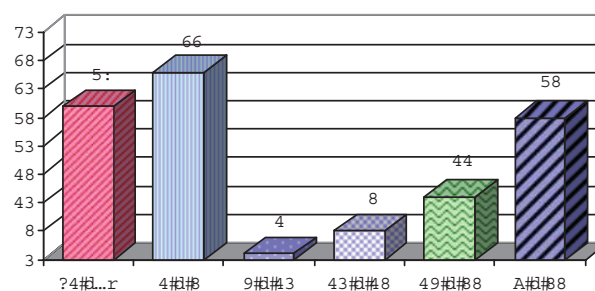


Figura 1. Distribución por edad de la muestra en estudio.



Concentración mayor a 10 ng/ml, es muy probable que el paciente presenta una sepsis severa o shock séptico, así como alto riesgo de presentar disfunción de múltiples órganos.

Características del ensayo

Precisión. Debido a que es una prueba semicuantitativa es posible que los valores de procalcitonina son solo aproximados y no exactos como en la prueba LUMitest® PCT (método de referencia para medir PCT), ya que en la prueba rápida usamos una intensidad de color para obtener un rango de concentración (2).

Linealidad. Altas dosis de procalcitonina, hasta 4000 ng/ml no causan efecto en la correlación de los rangos de concentraciones (2).

Interferentes. Muestras severamente hemolizadas no deben usarse para la medición de procalcitonina por medio de la prueba rápida de BRAHMS PCT®-Q debido a que restringe la lectura.

Por otro lado los lípidos y la bilirrubina no interfieren en la prueba.

Lectura. La lectura de la prueba se debe hacer a los 30 minutos con un tiempo máximo de 45 minutos. Una vez pasado este tiempo la prueba no es válida para determinar el rango de concentración de procalcitonina en la muestra (2).

La validez de la prueba es sumamente importante, por esta razón presenta una línea de control que esta ubicada por encima y de manera paralela a la de la muestra. Cuando la banda de control (que no es más que procalcitonina en altas concentraciones) no aparece la prueba no es válida, se debe descartar y volver a realizarla. Si la banda de control aparece se puede proceder a realizar la lectura de la concentración según la intensidad de color de la línea. Si la línea de la muestra no aparece, entonces la muestra es negativa.

Muestra. La procalcitonina es una proteína muy estable, por lo tanto si la muestra ha sido colocada a temperatura ambiente es posible recuperar un 80% o más de la concentración inicial de procalcitonina en la muestra después de 24 horas. Si la muestra ha sido debidamente almacenada a 4 grados centígrados se recupera más del 90% (2).

Sensibilidad y especificidad. BRAHMS PCT®-Q presenta una sensibilidad entre 90 y 92% y la especificidad es de 92 a 98% en comparación con el LUMitest®.

Debido a la comparación que se va a realizar entre los resultados de BRAHMS PCT®-Q y el hemocultivo es importante

conocer como realizar el hemocultivo desde la toma de la muestra hasta el diagnóstico final, así como saber el funcionamiento de los equipos electrónicos para hemocultivos.

Toma de muestra

Debido a que la mortalidad debido a septicemia es de 40% es muy importante el tiempo correcto de la recolección de la bacteria en la sangre (bacteriemia) para el diagnóstico y pronóstico del paciente.

Toda precaución que minimice la posibilidad de contaminación de la muestra se debe hacer. Es recomendable que todo laboratorio microbiológico realice estadísticas de las muestras contaminadas. Menos del 3% de las muestras es aceptable que sean contaminadas. Bates estima que una muestra contaminada conlleva a un aumento del 20 al 39% en los costos de hospitalización de los pacientes debido a la prolongación de la estadía en el hospital para la antibiótico y en terapia intravenosa así como para realizar exámenes adicionales (10). También recomienda que se realicen cultivos en pares para así saber si la muestra es contaminada o no, ya que si el microorganismo se reproduce en una sola de las muestras entonces es un contaminante, sin embargo si es positivo para ambos cultivos con el mismo microorganismo, entonces es el causante de la enfermedad.

Para reducir la posibilidad de contaminación por microorganismos de la piel se recomienda que la venipuntura se realice de la siguiente manera:

- 1.- Limpiar la zona con agua y jabón
- 2.- Enjuagar con agua esterilizada
- 3.- Aplicar yodo y dejar secar por 1 a 2 minutos
- 4.- Retirar el yodo con alcohol al 70%

Los últimos 2 pasos son indispensables para asegurar la correcta toma de la muestra, por lo tanto es recomendable palpar la vena antes de aplicar el yodo (6-11).

Si el yodo a usarse es yodo povidínico el último paso se puede omitir, sin embargo hay que estar seguro que la solución esta totalmente seca antes de realizar la extracción.

La mayoría de los investigadores concuerdan en que es recomendable obtener tres juegos de botellas para hemocultivo en un rango de 24 horas, pero hacer más de esto no aumenta la probabilidad de obtener cultivos positivos. En los casos comprobados que son positivos, el 80% son positivos para el primer set de muestras, 90% para el segundo y 99% para el tercero. Por lo tanto un mínimo de 2 botellas por set debe ser tomado por cada extracción. Schiffman y col. estima que 18000 episodios de bacteriemia son pasados por alto debido a no cumplir con estas pautas (12-13).

La toma de la muestra se debe realizar, si es posible, antes de iniciar tratamiento con terapia de antimicrobiales sistémicos. Sin embargo el hecho que el paciente ya haya sido tratado no significa que no se le puede realizar la prueba, pero debe ser considerado este factor en la interpretación de resultados.

El mejor momento para tomar la muestra es media hora antes del pico febril, ya que en este momento es cuando hay mayor concentración bacteriana en circulación sanguínea. Pero en algunos casos no se sabe cuando va a ocurrir el pico febril por esta razón hay que tomar otras recomendaciones, a saber:

- En casos de fiebre aguda como meningitis o neumonía bacteriana, cuando la antibiótico terapia es necesaria que sea inmediata o en pacientes con enfermedades infecciosas que van a ser sometidos a cirugía, es recomendable tomar 2 muestras separadas inmediatamente, en brazos opuestos y al mismo tiempo.
- En casos de síndrome febril de origen desconocido, 2 hemocultivos pueden ser inicialmente tomados con un intervalo de 45 a 60 minutos entre uno y otro.
La razón de este intervalo de tiempo es para determinar si la bacteriemia es intermitente o continua. Si dos botellas sucesivas con solo unos minutos de diferencia son positivas, significa que es el mismo episodio de bacteriemia y por lo tanto es menos significativo que dos o más botellas que hayan sido extraídas con una hora o mas de diferencia, lo que significa una bacteriemia recurrente de un sitio de infección. Dos o más sets de botellas pueden ser extraídos 24 a 48 horas después, si es necesario.
- En endocarditis infecciosa aguda, 3 hemocultivos deben de ser realizados durante la primera o segunda hora de evaluación y deben ser tomado por separado en 3 sitios diferentes, para así poder comenzar la terapia.

Existen dos tipos de botellas: aeróbicas que tiene 5 a 10% de CO₂ y anaeróbicas que favorecen el crecimiento de bacterias estrictamente anaerobias. Muchos autores recomiendan que el set de botellas sean 2 aeróbicas ya que este es mas probable, y solo se recomienda intentar aislar anaerobios cuando es realmente sospechado por el medico (2).

El volumen de sangre a ser extraído en un adulto debe ser de 10 a 30 ml por cada venipuntura. Esto es muy importante ya que se ha demostrado que cuando el volumen tomado es menor de 10 ml la posibilidad de tener el cultivo positivo es mucho menor. En los infantes el volumen recomendado es de 1 a 5 ml. Lo mas importante es saber que se debe agregar tanta sangre sea necesario en la botella para poder obtener una de 1:5 o 1:10 para así evitar el efecto de cualquier antibiótico.

El medio de cultivo que se usa en las botellas de hemocultivo, se puede usar para aislar cualquier microorganismo y es enri-

quecido con soya tripticasa, peptona, infusión cerebro-cora-zón, entre otros. Estos medios se pueden conseguir de manera comercial y según la marca puede variar el contenido de la botella y las proporciones (6-11).

BacT/Alert Blood Culture System

Hoy en día tenemos la posibilidad de examinar los hemocultivos de manera manual o automatizada. En este trabajo se va a comparar los resultados obtenidos de la prueba BRAHMS PCT®-Q (con muestras que han sido tomadas al mismo tiempo que el hemocultivo) con los hemocultivos que han sido analizados automáticamente con el sistema de BacT/Alert Blood Culture System Classic que usa actualmente en el Hospital de Clínicas Caracas. Los resultados de los hemocultivos fueron reportados por el servicio de Bacteriología del Hospital de Clínicas Caracas.

El BacT/Alert Blood Culture System es el primer sistema de monitoreo continuo de hemocultivos creado en Estados Unidos y ha sido muy utilizado desde entonces en innumerables laboratorios clínicos en todo el mundo (6).

Análisis estadísticos

Con estas variables se determinó la sensibilidad y especificidad del método, calculando los verdaderos positivos y verdaderos negativos utilizando como referencia la prueba de hemocultivo o la impresión diagnóstica.

Para evaluar la realización entre dos variables se utilizó el Chi cuadrado, todos estos valores fueron calculados para un intervalo de confianza de 95% de probabilidad.

Análisis de resultados

El Hospital de Clínicas Caracas obtuvo un total de 102 muestras a las que se le realizó hemocultivo y procalcitonina. Estos pacientes fueron procesados de la manera estandarizada y habiendo analizado un grupo control negativo para procalcitonina de 10 pacientes, cuya salud se encontraba en buen estado, se obtuvieron los siguientes resultados.

En ésta tabla se puede observar los datos de cada uno de los pacientes, estos incluyen su edad (en años, meses (M) o días (D)), el sexo (masculino (M) o femenino (F)), resultados de los hemocultivos (positivo (1) o negativo (0)), valores de procalcitonina (positivo, es decir, concentraciones igual o mayor a 10 ng/ml (1) o negativo, cuando la concentración es menor a 10 ng/ml (0)) y la impresión diagnóstica (IDx) del médico (paciente con sepsis, que puede ser de cualquier origen (1) o paciente no séptico (0)).

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia

Tabla 2. Resultados de los pacientes analizados para el estudio estadístico.

Nº de Px.	Edad	Sexo	Hemocultivo	PCT	IDx	Nº de Px.	Edad	Sexo	Hemocultivo	PCT	IDx
1	27D	M	0	0	0	55	68	F	0	0	0
2	37D	M	0	0	0	56	70	F	0	0	0
3	9M	M	0	0	0	57	70	F	0	0	0
4	13M	M	0	0	0	58	4	M	0	0	0
5	19M	F	0	0	0	59	64	M	0	0	0
6	1	F	0	0	0	60	76	F	0	1	0
7	3	F	0	0	0	61	2	M	1	0	1
8	22M	F	0	0	0	62	3	M	0	0	0
9	21M	F	0	0	0	63	28D	M	1	0	1
10	89	F	1	1	1	64	65	F	0	1	0
11	4	F	0	0	0	65	2	F	1	1	1
12	11M	F	0	0	0	66	7M	F	0	0	0
13	15M	M	0	1	0	67	61	F	0	0	0
14	21	M	0	0	0	68	3	F	0	0	0
15	7M	F	0	0	0	69	2	F	0	0	0
16	10M	M	0	0	0	70	18M	M	0	0	0
17	29	F	0	1	1	71	33	F	0	0	0
18	2	M	0	0	0	72	33	M	0	0	0
19	4	F	0	0	0	73	8M	F	0	0	0
20	34	F	0	0	0	74	1	M	0	0	0
21	33	M	1	1	1	75	57	F	1	1	1
22	85	F	0	0	0	76	2	M	0	0	0
23	34D	M	1	1	1	77	20D	M	0	0	0
24	72	M	0	0	0	78	8	M	0	0	0
25	5	F	0	0	0	79	7M	F	0	0	0
26	22M	F	0	0	0	80	6M	M	0	0	0
27	15M	M	0	0	0	81	59	F	0	0	0
28	40	M	0	0	0	82	67	M	0	0	0
29	66	M	0	0	0	83	15M	F	0	1	0
30	5	F	0	0	0	84	13M	F	0	0	0
31	8M	M	0	1	0	85	3D	M	0	0	0
32	22	F	0	0	0	86	16D	M	0	0	0
33	71	F	0	0	0	87	39D	M	0	0	0
34	5	F	0	0	0	88	64	F	0	0	0
35	15M	F	0	0	0	89	76	M	0	0	0
36	85	M	1	1	1	90	13	F	1	1	1
37	60	F	1	1	1	91	24	F	0	0	0
38	88D	F	0	0	0	92	14	M	0	0	0
39	5D	M	0	1	0	93	12	M	0	0	0
40	1D	F	0	0	0	94	84	F	0	0	0
41	2	F	0	0	0	95	75	F	0	0	0
42	9M	F	0	0	0	96	75	M	0	0	0
43	2	F	0	0	0	97	82	F	0	0	0
44	40	F	0	0	0	98	11	M	0	0	0
45	2	M	0	0	0	99	2	F	0	0	0
46	7M	F	0	0	0	100	11	M	0	0	0
47	2	F	0	0	0	101	2	F	0	0	0
48	4M	F	0	0	0	102	19D	M	0	0	0
49	73	F	0	0	0						
50	5D	M	0	0	0						
51	31	F	1	1	1						
52	2	M	0	0	0						
53	82	F	0	0	0						
54	1	F	0	0	0						
Totales									11	16	12

A continuación se presentan unos gráficos para conocer la distribución de la muestra analizada (Figuras 2, 3 y 4).

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia

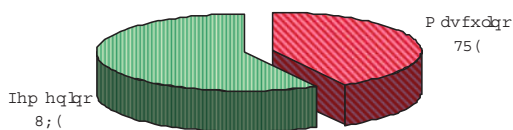


Figura 2. Distribución de la muestra por sexo.

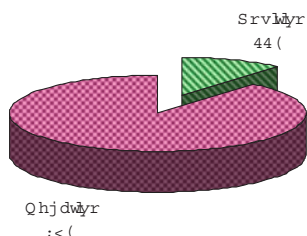


Figura 3. Resultado de los hemocultivos.

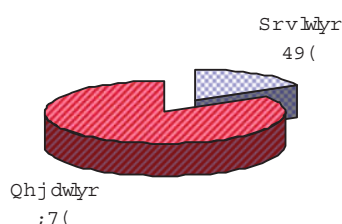


Figura 4. Resultados de los valores de procalcitonina.

Con los datos obtenidos se puede conocer dentro de la población que fue diagnosticada con sepsis, independientemente del método utilizado, la incidencia por sexo y edad de la enfermedad.

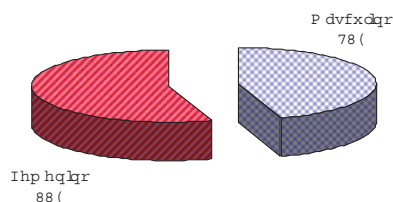


Figura 5. Distribución por sexo de los pacientes diagnosticados con sepsis por el hemocultivo.

En las siguientes Figuras 6 y 7 vemos la distribución de los pacientes por sexo con diagnóstico de sepsis según los valores de Procalcitonina y según la impresión diagnóstica del médico.

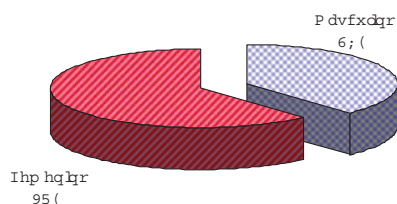


Figura 6. Distribución por sexo de los pacientes diagnosticados con sepsis por los valores de procalcitonina.

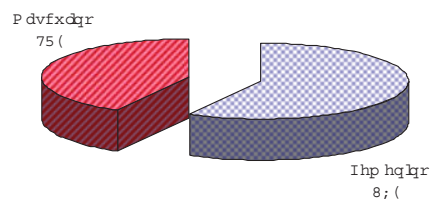


Figura 7. Distribución por sexo de los pacientes diagnosticados con sepsis por la impresión diagnóstica del médico.

Se pudo observar en todos los casos una clara mayoría de población femenina, valor que es esperado, ya que la mayoría de la población en estudio fue femenina.

La distribución por edad la vemos en las Figuras 8, 9 y 10.

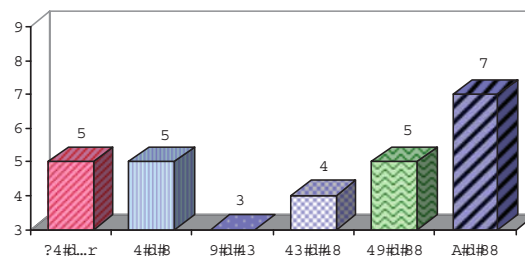


Figura 8. Distribución por edad de los pacientes diagnosticados con sepsis por el hemocultivo.

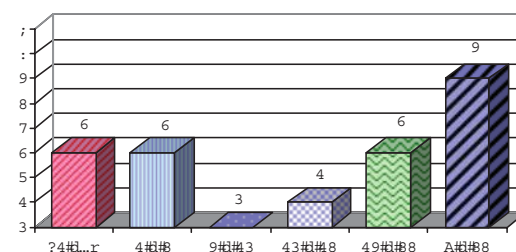


Figura 9. Distribución por edad de los pacientes diagnosticados con sepsis por los valores de procalcitonina.

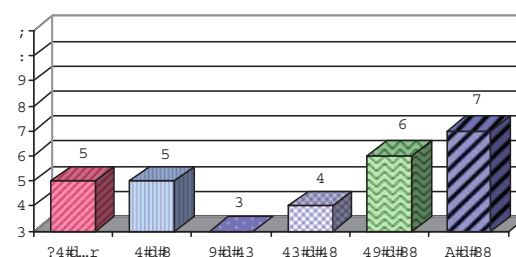


Figura 10. Distribución por edad de los pacientes diagnosticados con sepsis por la impresión diagnóstica del médico.

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia

El primer análisis que se debe realizar es la comparación entre los datos usados como referencia para el diagnóstico de sepsis, estos son el hemocultivo y la impresión diagnóstica del médico tratante. Cabe destacar que la impresión diagnóstica cuando

se refiere a sepsis, incluye la sepsis de cualquier origen no sólo cuando es bacteriana (viral, micológico, parasitario, inflamatorio, etc.).

Tabla 3. Comparación de la prueba de hemocultivo y la impresión diagnóstica para el diagnóstico de sepsis.

Referencia:			
Prueba:	IDx		
		+	-
Hemocultivo	+	11	0
	-	1	90
Total		12	90
			102

	Resultado	Límite Inferior	Límite Superior
Proporción de Verdaderos Positivos	10,80%	4,80%	16,80%
Proporción de Verdaderos Negativos	88,00%	82,00%	94,50%
Falsos Positivos	0,00%	0,00%	0,00%
Falsos Negativos	1,00%	0,00%	2,90%
Exactitud	99,00%	97,10%	100,00%
Sensibilidad	91,67%	76,00%	100,00%
Especificidad	100,00%	100,00%	100,00%
J Youden	0,92	0,76	1,07
Chi Cuadrado (Probabilidad)	0,00%		

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia

Aquí se puede observar que la exactitud, sensibilidad y especificidad entre ambos parámetros es alta, lo que significa que son similares entre ellas. De ésta manera se demuestra lo buena que es la técnica del hemocultivo para el diagnóstico de sepsis, aunque sea una prueba costosa y los resultados no sean de inmediato, sigue siendo una prueba indiscutible de referencia para el diagnóstico de sepsis causado por bacteriemia.

Por otro lado la impresión diagnóstica nos hace observar la alta calidad de los médicos tratantes de éstos casos y además es un método rápido para tratar de dar al paciente el tratamiento adecuado lo más rápido posible. También hay que saber que los síntomas de sepsis son similares al de otras patologías y

sólo el hemocultivo puede ayudar a hacer un diagnóstico seguro de la enfermedad. Además éstas dos variables pueden nos ser independientes una de la otra, ya que el médico pudo haber utilizado como factor de referencia el hemocultivo, pero éste tipo de información es difícil de obtener, ya que habría que entrevistar a cada uno de los médicos tratantes al momento que esto sucedió.

El siguiente análisis es para comparar la prueba en estudio de procalcitonina (BRAHMS PCT®-Q) y el hemocultivo, y encontrar la impresión diagnóstica. Es de esperar, como ya se explicó que el hemocultivo y la impresión diagnóstica son similares entre ellos entonces los valores estadísticos cuando éstos son comparados con la prueba BRAHMS PCT®-Q también lo sean.

Tabla 4. Comparación de la prueba BRAHMS PCT®-Q y el hemocultivo.

Prueba: PCT	Referencia: IDx			Total
		+	-	
	+	10	6	
	-	2	84	86
Total		12	90	102

	Resultado	Límite Inferior	Límite Superior
Proporción de Verdaderos Positivos	9,80%	4,00%	15,60%
Proporción de Verdaderos Negativos	82,00%	75,00%	89,80%
Falsos Positivos	6,00%	1,30%	10,40%
Falsos Negativos	2,00%	0,00%	4,70%
Exactitud	92,00%	86,90%	97,40%
Sensibilidad	83,33%	62,20%	100,00%
Especificidad	93,33%	88,20%	98,50%
J Youden	0,77	0,55	0,98
Chi Cuadrado (Probabilidad)	0,00%		

Tabla 5. Comparación de la prueba BRAHMS PCT®-Q y la impresión diagnóstica.

		Referencia:		
		Hemocultivo		
Prueba: PCT		+	-	Total
	+	9	7	16
	-	2	84	86
Total		11	91	102

	Resultado	Límite Inferior	Límite Superior
Proporción de Verdaderos Positivos	8,80%	0,33%	14,30%
Proporción de Verdaderos Negativos	82,00%	75,00%	89,80%
Falsos Positivos	7,00%	2,00%	11,80%
Falsos Negativos	2,00%	0,00%	4,70%
Exactitud	91,00%	85,70%	96,70%
Sensibilidad	81,82%	59,00%	100,00%
Especificidad	92,31%	86,80%	97,80%
J Youden	0,74	0,51	0,98
Chi Cuadrado (Probabilidad)	0,00%		

Al comparar la prueba para determinar los valores de procalcitonina BRAHMS PCT®-Q contra el hemocultivo y la impresión diagnóstica, se puede observar que la sensibilidad de la prueba BRAHMS PCT®-Q es mayor al 80% en ambas comparaciones. Lo que implica que el paciente que padece de la enfermedad tiene un 80% de probabilidades de ser diagnosticado como paciente con sepsis por los valores de procalcitonina medidos por la prueba BRAHMS PCT®-Q. En el caso de sepsis por ser una patología grave y que requiere tratamiento lo antes posible se busca que los valores de sensibilidad sean los más altos posibles, ya que es preferible dar tratamiento a pacientes que tal vez no lo requieran que dejar de dárselo a los que lo necesitan de manera urgente. Además se puede realizar otras mediciones de procalcitonina a las 24 horas después de haber

colocado el tratamiento, de ésta manera nos puede ayudar al monitoreo del paciente y es recomendable utilizar otros indicadores para el diagnóstico definitivo. De todas maneras el tratamiento no es tan costoso por lo tanto es mejor prevenir en los casos en los que hay altas sospechas de sepsis.

Con respecto a la especificidad se puede observar que es mayor al 92%, éste es un número muy favorable ya que nos indica que la prueba BRAHMS PCT®-Q es una herramienta de gran utilidad para hacer descarte de sepsis en los pacientes cuyos síntomas sean similares a los de ésta enfermedad. Ya que la patología es severa es bueno que en 30 minutos el médico pueda saber con 92% de seguridad que no se trata de sepsis y así comenzar a pensar en otras opciones.

Estudio de la prueba BRAHMS PCT®-Q en el diagnóstico precoz de sepsis causada por bacteriemia

La exactitud en ambas comparaciones es mayor a 91%, lo que indica que esa es la probabilidad de que el resultado obtenido sea el verdadero. Este porcentaje es elevado, por lo tanto es indicador de que la prueba es confiable.

La J de Youden indica la poca probabilidad de error que pueda presentar una prueba para realizar diagnóstico, y mientras más cercano a la unidad, mejor es la prueba. En el caso de BRAHMS PCT®-Q éste valor fue de 0.74 y 0.77. Estos valores aunque son bastante elevados, se podrían maximizar, para así recomendar la prueba como una excelente vía para hacer diagnóstico rápido de sepsis.

En la prueba de chi cuadrado, se demuestra que las probabilidades de azar son del 0.0%. Por lo tanto da seguridad de que los valores obtenidos, aunque pueden tener algún error, no son producto del azar, demostrando entonces, la validez de los mismos.

Se puede observar que los intervalos de confianza en los valores calculados son sumamente amplios. Esto preocupa debido a que las conclusiones expresadas en éste trabajo pudieran ser distintas, aún dentro de los intervalos de confianza. Para poder reducir los intervalos de confianza es recomendable utilizar un mayor número de muestras, que en caso del presente trabajo no pudo obtenerse por las limitaciones del mismo.

Conclusiones

Se pudo determinar que la prueba de BRAHMS PCT®-Q, una vez correlacionada con el hemocultivo y la impresión diagnóstica, presenta una exactitud muy alta (mayor al 90%), una sensibilidad aceptable de 80% y una especificidad de 90%, lo que indica que es una prueba buena, donde el factor del azar no está presente, pero es mucho mejor y más recomendada para el descarte de sepsis, que para el diagnóstico de ella.

El tiempo para poder hacer un diagnóstico de sepsis a través de BRAHMS PCT®-Q, tomando en cuenta su sensibilidad, es muy favorable, ya que con una sencilla muestra de sangre y en tan sólo treinta minutos se puede obtener resultados con una exactitud mayor al 90%. En cambio si usamos únicamente el hemocultivo, aunque sea la prueba de referencia hay que esperar entre veinticuatro horas y hasta siete días para poder conocer el diagnóstico del paciente. Por otro lado utilizando la impresión diagnóstica como única fuente se pueden cometer errores, debido a que la sintomatología es similar a la de otras patologías, pudiéndose pasar por alto la sepsis.

Ya que en nuestro país hay población en lugares remotos, donde incluso puede faltar la electricidad y otros medios necesarios para el diagnóstico de sepsis, entonces es muy recomendable utilizar la prueba de BRAHMS PCT®-Q, ya que con una

simple muestra de sangre que puede ser plasma o suero, se puede hacer un diagnóstico de sepsis y ofrecer tratamiento al paciente de inmediato de ser esto necesario o descartar con mayor seguridad la enfermedad.

Se determinó que los pacientes diagnosticados de sepsis por hemocultivo fueron negativos un 89% y positivos un 11%, de los cuales el 55% fue de sexo femenino y 45% masculino. La edad predominante en estos casos fueron los pacientes mayores a 55 años.

En los pacientes diagnosticados por los valores de procalcitonina, el 84% fue negativo y 16% positivo, de los cuales 62% fue de sexo femenino y 38% masculino. La edad predominante en estos casos fueron los pacientes mayores a 55 años.

Es importante destacar que en el presente trabajo no se incluyó ningún filtro para descartar las sepsis de Origen no bacteriano dentro de los diagnósticos realizados por el médico (impresión diagnóstica), y para los cuales la procalcitonina no presenta sensibilidad reconocida, por otro lado, aunque para los fines comparativos de este trabajo hemos tomado como métodos referenciales a la impresión diagnóstica médica y al hemocultivo, no utilizamos ningún criterio evaluador para depurar dichas metodologías de falsos positivos o negativos, por carecer del tiempo, logística y recursos necesarios para tal fin.

Como se expuso al inicio de este trabajo, el método de determinación de procalcitonina mayormente utilizado en las validaciones y estudios científicos ha sido el LUMitest® de BRAHMS, método que lógicamente es mucho más sensible que el BRAHMS PCT®-Q por ser realizado bajo la técnica de quimioluminiscencia, comparado con el BRAHMS PCT®-Q cuya técnica es inmunocromatográfica con lectura visual.

Sería interesante y hasta necesario implementar una depuración de los métodos de impresión diagnóstica y hemocultivo, realizados por el médico y el laboratorio respectivamente, que busque eliminar los falsos positivos y negativos que pudiesen existir dado el error humano e instrumental siempre existentes bajo cualquier punto de vista; Sin embargo se necesitarán estudios ulteriores para determinar si los resultados de sensibilidad y especificidad de la BRAHMS PCT®-Q podrían ser aún mejores de los encontrados, comparados con la “verdadera condición clínica del paciente”.

Los resultados de nuestro trabajo se constituyen hoy día, como los primeros que se realizan en Venezuela con la procalcitonina y su importancia como herramienta diagnóstica en la sepsis bacteriana, debido a que la prueba no lleva más de 1 año de introducida comercialmente en el país, por lo cual seguramente este trabajo formará parte, en futuro cercano del gran número



de publicaciones que actualmente existen acerca de la procalcitonina en otros países, y que certifican la valiosa utilidad que tiene este parámetro en el diagnóstico “rápido” de la sepsis.

Trabajos con técnicas más sensibles como la quimioluminiscencia y/o fluorometría de resolución temporal, son requeridos para lograr una evaluación más completa y real de la sensibilidad, especificidad y exactitud de la procalcitonina como herramienta diagnóstica en la sepsis bacteriana.

También es conocido a nivel mundial, el uso de la procalcitonina como herramienta de monitoreo del tratamiento y mejoría del paciente con sepsis, lo cual es un uso muy apreciado por la disminución de costos hospitalarios que pudiese generar, sin embargo, debido a no disponer de mayor tiempo y acceso a la información, dicha característica no pudo ser evaluada en el presente trabajo, siendo necesario trabajos ulteriores venezolanos que soporten los hallazgos de otros trabajos en distintos países, y puedan sensibilizar a las autoridades sanitarias en la adopción de la procalcitonina como parámetro de medición en los centros de salud estatales, en aras de optimizar los costos y mejorar la disponibilidad de camas de terapia intensiva en los hospitales y otros centros de salud.

Referencias

1. Republica de Venezuela. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Anuario de Epidemiología y Estadística Vital Año 1995. Octubre 1997. Agosto 2006. <http://www.msds.gov.ve/msds/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Anuarios/Anuario95.pdf
2. Meisner, Michael. Procalcitonin (PCT). Thieme Publishers. 2000.
3. Isselbacher, K.J., et al. Clinical Syndromes Community Acquired. Harrison's Principle of Internal Medicine. 13ava. Edición. Volumen 1. International Edition. 1994;83:511-5.
4. Cleveland Clinic. Sepsis. Agosto 2005. Cleveland Clinic. Agosto 2006.
5. <<http://www.clevelandclinic.org/health/health-info/docs/3800/3887.asp?index=12361>>
6. Gómez, José Luis. Sepsis: lo que usted debe saber. Society of Critical Care Medicine. Agosto 2006.
7. <http://www.sccm.org/patient_family_resources/support_brochures/documents/SepsisS.pdf
8. Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott-Raven Publishers. 1997;3:157-8.
9. Hart, Jacqueline, M.D. Medical Encyclopedia. ADAM. Agosto 2006. Medline Plus. Septiembre 2006.
10. <<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000666.htm#Definition>>
11. Organización Panamericana de la Salud. Venezuela. Organización Mundial de la Salud. Agosto 2006. <<http://www.paho.org/english/sha/venrstp.htm>>
12. Meisner, M., Tschaikowsky, K., Palmaers, T., Spegel, K. Procalcitonin (PCT) and CRP: Comparison of plasma concentrations at different SOFA-scores during the course of sepsis and MODS. Shock (Abstract). 1997;8:47.
13. Bates, D.W., Goldman, L., Lee, T.H. Contaminant Blood Cultures and Resource Utilization: The true consequences of false-positive results. JAMA. 1991;265:365-9.
14. Levinson, Warren; Jawetz, Ernest. Medical Microbiology and Immunology. Laboratory Diagnosis. 7ma. Edición. Lange Medical Books/ McGraw Hill. 2002;9:53-8.
15. Bartlett, R.C., Ellner, P.D., Washington, J.A. II: Cumitech 1: Blood Cultures. Coordinating ed., JC Sherris. Washington DC. American Society for Microbiology. 1974.
16. Reller, R.B., Murray, P.R., MacLowry, J.D. Cumitech 1: Blood Cultures II. Washington DC. American Society for Microbiology. 1982
17. Sabat, R., Hoflich C., Docke W.D., Oppert, M., Kern, F., Windrich, B., Rosenberger, C., Kaden, J., Volk, H.D., Reinke, P. Massive elevation of procalcitonin plasma levels in the absence of infection in kidney transplant patients treated with pan-T-cell antibodies. Institute of Medical Immunology, Charite, Humboldt University Berlin, Germany. PubMed. 2001. Agosto 2006.
18. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=11497157&dopt=Abstract.