

1971

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
Dpto. DE MICROBIOLOGIA II



**LA FIBRONECTINA COMO MARCADOR
DIAGNOSTICO Y PRONOSTICO EN LA SEPSIS**

TESIS DOCTORAL

AUTOR: GUADALUPE RUIZ MARTIN
DIRECTOR: Dr. JOSE PRIETO PRIETO
TUTOR: Dr. CESAR NOMBELA CANO

MADRID, 1997



DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

28040 MADRID

JOSE PRIETO PRIETO, CATEDRATICO Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO
DE MICROBIOLOGIA I DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

INFORMA: Que el trabajo realizado por D^a GUADALUPE RUIZ MARTIN, con el tema "FIBRONECTINA COMO MARCADOR DIAGNOSTICO Y PRONOSTICO DE SEPSIS", ha sido realizado en el Departamento de Microbiología I de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense bajo mi dirección, reuniendo los requisitos necesarios para obtener el grado de Doctor en Farmacia, por lo que doy la oportuna autorización para su presentación como Tesis Doctoral.

Y para que conste, firmo el presente Informe en Madrid, a 30 de Abril de 1997.

Fdo.: José Prieto Prieto.

A mis padres
A mis hermanos
A mis sobrinos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a todas aquellas personas que, de alguna manera, me han ayudado en la realización de esta Tesis:

De una forma muy especial, quiero agradecer al Profesor José Prieto Prieto, director de la Tesis, y a la Dra. M^a Luisa Gomez Lus la paciencia que han tenido siempre conmigo, su dedicación y la formación que de ellos he recibido y la amistad que me han demostrado.

Al Dr. Jorge Veiga de Cabo su inestimable apoyo y sus valiosos consejos tanto prácticos como teóricos, que me han supuesto una enorme ayuda a la hora de desarrollar este trabajo, así como las innumerables y estimulantes discusiones extracientíficas que hemos compartido. Asimismo, quiero agradecer al Dr. Javier Moreno Palomares y al Dr. Santiago Macías por ofrecerme desde el principio su ayuda incondicional.

Me gustaría hacer una mención especial al Dr. Diego Reverte por ser la referencia ineludible de todos los residentes del Hospital de Segovia y que consiguió infundirme el ánimo suficiente para llevar a cabo lo que parecía imposible.

También deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todo el personal del Hospital General de Segovia, especialmente al del Laboratorio y a las enfermeras de las plantas sin cuya colaboración en los momentos más cruciales de la investigación ésta hubiera sido completamente irrealizable.

Asimismo me gustaría recordar al Jefe de Servicio de Análisis Clínicos, Dr. José Manuel G. Landa; al Jefe de Sección de Microbiología, Dr. Santiago Carbajosa; al Director Médico, Dr. Luis Guinea; a todos los especialistas y residentes de dicho Hospital en general y a los del Servicio de Análisis Clínicos en particular, el facilitarme su apoyo en la realización del trabajo experimental.

Mi agradecimiento a la Dra. Angela Gomez Alférez del Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia por haber facilitado la lectura de esta Tesis y haber aceptado ser Secretaria de la misma.

Asimismo, me gustaría agradecer la excelente asistencia técnica de Ricardo Mesanza del Laboratorio Behring, que acudió a socorrerme rápidamente cuando me surgió algún problema.

Al Dr. Ziad Daoud y a la Dra. Elisa Romero por su apoyo y colaboración inestimables y por su amistad.

A mis amigas del alma Isabel, Pilar y Rocío por lo que me han tenido que soportar.

Por último, quiero agradecer a mis padres y mis hermanos por todo lo que han hecho por mí y por lo que han tenido, y algunos todavía tendrán, que aguantar. Y especialmente a Alvaro por ser mi apoyo en todo momento.

*Yo confío
en que muestras mayores esperanzas,
si son auténticas,
no están por encima de nuestras fuerzas nunca.*

A. Gala

INDICE

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS	i
I. INTRODUCCION	1
1. SEPSIS	2
1.1. DEFINICION	2
1.2. ETIOLOGIA	2
1.3. EPIDEMIOLOGIA	3
1.4. PATOGENIA Y ANATOMIA PATOLOGICA	4
1.5. FISIOPATOLOGIA.....	5
1.5.1. FACTORES MICROBIANOS	5
1.5.2. MEDIADORES DEL HUÉSPED	5
1.5.2.1. CITOCINAS.....	6
1.5.2.1.1. TNF- α	6
1.5.2.1.2. IL-1	7
1.5.2.1.3. IL-6	8
1.5.2.1.4. IL-8	8
1.5.2.1.5. Factores hematopoyéticos	8
1.5.2.2. PROTEINAS DE FASE AGUDA.....	9
1.5.2.2.1. Proteína C Reactiva	11
1.5.2.2.2. α_1 Antitripsina	11
1.5.2.2.3. α_1 Glicoproteína Ácida (Orosomucoide).....	12
1.5.2.2.4. Haptoglobina	12
1.5.2.2.5. Prealbúmina	13
1.5.2.2.6. C ₃ y C ₄	13
1.5.2.2.7. Ceruloplasmina	14
1.5.2.3. OTROS MEDIADORES DE LA INFLAMACION.....	15
1.6. MANIFESTACIONES CARDIOPULMONARES	16
1.7. REACCIONES METABOLICAS	17
1.8. COMPLICACIONES	18
1.8.1. INSUFICIENCIA RESPIRATORIA	18
1.8.2. DEFECTOS DE LA COAGULACIÓN	18
1.8.3. INSUFICIENCIA RENAL	19
1.8.4. OTROS ORGANOS.....	19
1.9. MANIFESTACIONES CLINICAS.....	19
1.10. DATOS DE LABORATORIO.....	20
1.11. ALTERACIONES EN EL ELECTROCARDIOGRAMA.....	22
1.12. DIAGNOSTICO DE SEPSIS	22

1.12.1. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO	22
1.12.2. DIAGNOSTICO CLINICO. NUEVAS RECOMENDACIONES.....	23
1.13. PRONOSTICO	24
1.14. TRATAMIENTO	25
1.14.1. TRATAMIENTO CLASICO.....	25
1.14.2. NUEVAS PERSPECTIVAS TERAPEUTICAS. TERAPIA ANTIMEDIADORES	27
1.14.2.1. MACROMOLECULAS	27
1.14.2.1.1. Anticuerpos.....	27
1.14.2.1.2. Antagonistas naturales de receptores	28
1.14.2.1.3. Factores hematopoyéticos	29
1.15.2.1.4. Terapias antiadhesión	29
1.15.2.1.5. Coadyuvantes del sistema reticulo-endotelial: Fn.....	30
1.14.2.2. MICROMOLECULAS.....	31
2. CRITERIOS DE VALORACION.....	31
2.1. CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LOS DISTINTOS ESTADIOS DE GRAVEDAD EN LA SEPSIS	31
2.1.1. SEPSIS LEVE	32
2.1.2. SEPSIS SEVERA.....	33
2.1.3. SHOCK SÉPTICO	33
2.1.4. FALLO MULTIORGANICO (FMO).....	33
2.2. CRITERIOS DE VALORACION DE LA EVOLUCION CLINICA.	34
2.2.1. DISEÑO DE SCORES EN PACIENTES SEPTICOS	35
2.2.1.1. ANALISIS PARA IDENTIFICAR Y CATEGORIZAR LOS FACTORES DE RIESGO	35
2.2.1.2. OBTENCION DE LA ECUACION MATEMATICA.....	36
2.2.1.3. VALIDACION DE LOS SCORES	36
2.2.2. EVOLUCION DE LOS SCORES	37
3. FIBRONECTINA.....	39
3.1. DESCRIPCION.....	39
3.2. DISTRIBUCION	42
3.3. FISIOPATOLOGIA.....	47
3.3.1. FUNCIONES DE LA Fn.....	47
3.3.2. INTERACCIONES DE Fn CON MICROORGANISMOS PATOGENOS	50
3.4. CONCENTRACION PLASMATICA DE FN	52
3.4.1. NIVELES DE FN EN SUJETOS SANOS	52
3.4.2. FIBRONECTINA PLASMATICA EN DISTINTOS PROCESOS PATOLOGICOS	53

II. OBJETIVOS	55
III. MATERIAL Y METODOS	57
1. SELECCION DE LOS GRUPOS CONTROLES	58
1.1. CONTROLES VOLUNTARIOS SANOS.....	58
1.2. CONTROLES DE PATOLOGIA VARIADA.....	58
1.3. CONTROLES “FIEBRES AISLADAS” O CASOS ELIMINADOS.....	58
2. SELECCION DE LOS CASOS	59
2.1. CRITERIOS DE INCLUSION.....	59
3. TIEMPOS DE MUESTREO	60
3.1. EXTRACCIONES DE FN EN LOS CONTROLES.....	60
3.2. EXTRACCIONES DE FN EN LOS CASOS.....	61
4. TECNICA ANALITICA DE MEDICION DEL INDICADOR	61
4.1. PRINCIPIO DEL METODO.....	61
4.2. REACTIVOS.....	61
4.3. MATERIAL A INVESTIGAR.....	62
4.4. INSTRUMENTACION.....	62
5. DESCRIPCION DEL SCORE	62
6. ANALISIS DE LOS RESULTADOS	65
6.1. PUNTOS DE CORTE O DISCRIMINATORIOS.....	65
6.2. PRUEBAS ESTADISTICAS APLICADAS.....	66
IV. RESULTADOS	68
1. DESCRIPCION Y RESULTADOS EN LOS CONTROLES	69
1.1. CONTROLES SANOS.....	69
1.2. CONTROLES DE PATOLOGIA VARIADA.....	70
1.3. CONTROLES “FIEBRES AISLADAS”.....	72
2. RESULTADOS EN LOS CASOS	75
2.1. DESCRIPCION GENERAL DE LOS CASOS.....	77
2.1.1. SERVICIO.....	77
2.1.2. ENFERMEDAD DE BASE.....	77
2.1.3. ESTADIO DE GRAVEDAD.....	81
2.1.4. RESULTADO FINAL.....	81
2.1.5. FOCOS PROBABLES DE INFECCION.....	81

2.2. RESULTADOS DE LOS CULTIVOS	81
2.2.1. EN FUNCION DEL SEXO.....	81
2.2.2. EN FUNCION DEL ESTADIO DE GRAVEDAD	82
2.2.3. TIPO DE MICROORGANISMO AISLADO EN FUNCION DEL PROBABLE FOCO DE INFECCION	82
3. CALCULO DE LOS PUNTOS DE CORTE O DISCRIMINATORIOS.....	83
3.1. PUNTOS DE CORTE ENTRECASOS SEPTICOS Y CONTROLES NO SEPTICOS.....	83
3.2. PUNTOS DE CORTE ENTRE CONTROLES SANOS Y ENFERMOS.....	85
4. ANALISIS DE LA UTILIDAD DE LA F _n EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DE SEPSIS	87
5. VALOR DE LA FN COMO MARCADOR DE EVOLUCION EN LA SEPSIS.....	90
5.1. EVOLUCION DE LOS NIVELES EN LOS CASOS DADOS DE ALTA	90
5.2. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE F _n SEGUN EL AISLAMIENTO MICROBIOLOGICO EN LOS PACIENTES DADOS DE ALTA.....	92
6. DETECCION DE VALORES FUERA DE RANGO (EXTREMOS).....	94
7. COMPORTAMIENTO DE LA F _n EN LOS PACIENTES FALLECIDOS	96
8. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DEL SCORE.....	97
V. DISCUSION	100
VI. CONCLUSIONES	122
VII. ANEXOS	125
ANEXO I. DIAGNOSTICO DE FRACASO DE ORGANO.....	126
ANEXO II. SCORE.....	127
ANEXO III. CURVAS <i>ROC</i>	132
ANEXO IV. MEDICIONES Y SCORE.....	133
ANEXO V. GRAFICAS DE LOS CASOS	137
VIII. BIBLIOGRAFIA	156

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

ACCP/SCCM	<i>American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine</i>
AcM	Anticuerpos monoclonales
ACTH	Hormona adrenocorticotropa
ACVA	Accidente Cerebro-Vascular Agudo
ADVP	Adicto a Drogas por Via Parenteral
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
APACHE	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i>
AUC	Area Bajo la Curva
AVP	Hormona vasopresina
BNCO	Bronco-Neumonía Crónica Obstructiva
BPI	Proteína Bactericida/Incrementadora de la permeabilidad
CID	Coagulación Intravascular Diseminada
CPV	Controles de Patología Variada
DMID	Diabetes Mellitus Insulino Dependiente
DNA	Acido desoxiribonucleico
ECG	Electrocardiograma
ED	<i>Extra Domain</i>
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal
EPOC	Enfermedad Pulmonar Crónica Obstructiva
FA	Fibrilación Auricular
FMO	Fallo Multi-Orgánico
Fn	Fibronectina
FOD	Fiebre de Origen Desconocido
FUO	Fallo de un órgano
G-SCF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GH	Hormona del crecimiento
GM-SCF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos
HDA	Hemorragia Digestiva Alta
HTA	Hipertensión arterial
IAM	Infarto Agudo de Miocardio
ITU	Infección del Tracto Urinario
ICAM	Molécula de adhesión intercelular
IL	Interleucina
IL-1ra	Antígeno receptor de la Interleucina
IRC	Insuficiencia Renal Crónica
LANL	Leucemia Aguda No linfoblástica
LETS	<i>Large External Transformation Sensitive Protein</i>
LLC	Leucemia Linfocítica Crónica

LMMC	Leucemia Mielo-Monocítica Crónica
LNH	Linfoma No Hodgkin
LPS	Lipopolisacárido
M-CSF	Factor estimulante de colonias de monocitos
MAR	<i>Matrix Assembly Receptor</i>
MM	Mieloma Múltiple
MPM	Mortality Prediction Method
mRNA	Acido ribonucléico mensajero
NTA	Necrosis Tubular Aguda
PMNs	Polimorfonucleares
Prot.C.R.	Proteína C Reactiva
RESP	Tracto Respiratorio
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RVP	Resistencia Vascular Periférica
SAPS	<i>Simplified Acute Physiology Score</i>
SDRA	Síndrome de Dificultad Respiratoria del Adulto
SRIS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
sTNFRp55	Antagonista del receptor para TNF
TGI	Tracto Gastro-Intestinal
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
TNFR	Receptor para el Factor de Necrosis Tumoral
TS	Tensión Sistólica
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VLA	<i>Very Late Activation Antigen</i>
VPN	Valor Predictivo Negativo
VPP	Valor Predictivo Positivo

I. INTRODUCCION

1. SEPSIS

1.1. DEFINICION

La sepsis es una entidad clínica que se define como la respuesta del huésped ante la presencia documentada de bacterias.

Las manifestaciones ordinarias son fiebre, escalofríos, taquicardia, taquipnea y alteración mental. Cuando aparecen hipotensión y signos de riego sanguíneo insuficiente a los órganos, el proceso se denomina shock séptico. La insuficiencia circulatoria se caracteriza por una resistencia vascular disminuida, descenso de la función contráctil del miocardio, estancamiento y mala distribución de la sangre en la microcirculación. Igualmente aparecen lesiones difusas, celulares y tisulares y, finalmente, un fracaso generalizado de los órganos.

1.2. ETIOLOGIA

Las manifestaciones de la sepsis pueden apreciarse en las infecciones sistémicas graves con toda clase de microorganismos; sin embargo el shock séptico franco se debe, sobre todo, a bacterias gramnegativas (60 a 70% de los casos). Los estafilococos, neumococos, estreptococos y otros agentes grampositivos son menos frecuentes (20 a 40%), también los hongos oportunistas (2 a 3 %) y, raras veces, las micobacterias o ciertos virus (el dengue-fiebre hemorrágica y los virus del herpes) o los protozoos (*Plasmodium falciparum*).

En la sepsis, los microorganismos que se aíslan más a menudo en los hemocultivos son *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Serratia spp.*, seguidos por los estafilococos y neumococos. La bacteriemia por gramnegativos se complica con shock en un 40% aproximadamente de los enfermos; el shock se observa en un 5 a 15 % de los enfermos con bacteriemias agudas por neumococos o estafilococos. Cuando hay meningitis y púrpura generalizada el agente aislado con mayor frecuencia es *Neisseria meningitidis*.

Es relativamente habitual que los enfermos muestren manifestaciones clínicas de sepsis y de shock séptico franco acompañando a una infección localizada importante, pero sin que se detecten microorganismos en el hemocultivo.

El síndrome de la sepsis y el shock se desencadena por las interacciones de diversos productos bacterianos existentes en la sangre, por ejemplo las endotoxinas de los gramnegativos, con los sistemas mediadores del huésped.

1.3. EPIDEMIOLOGIA

Los factores predisponentes son, entre otros, diabetes mellitus, cirrosis, alcoholismo, leucemia, carcinoma diseminado o linfoma, VIH, quimioterapia citotóxica, ADVP y fármacos inmunosupresores que producen neutropenia, nutrición parenteral total, diversas técnicas quirúrgicas e infecciones procedentes del tubo digestivo y de vías biliares o urinarias. Muestran particular riesgo los recién nacidos y los ancianos con obstrucción o trastornos funcionales de las vías urinarias.

Las bacteriemias por grampositivos son más frecuentes fuera del hospital, excepto la sepsis estafilocócica propiciada por catéteres intravenosos permanentes. En los años 70, los microorganismos grampositivos causaron menos del 10% de los casos de shock séptico en la mayor parte de los hospitales, pero su incidencia relativa parece estar aumentando y actualmente se aproxima al 30% en estudios prospectivos.

Las sepsis por hongos oportunistas se observan más a menudo en enfermos inmunodeprimidos con neutropenia intensa o en el postoperatorio de enfermos con catéteres intravenosos y suele seguir a un tratamiento antibiótico prolongado.

El amplio uso de antibióticos y glucocorticoides, de la ventilación mecánica y de catéteres intravenosos y urinarios o de tubos de drenaje en otras localizaciones, así como la mayor longevidad de los pacientes con enfermedades crónicas, contribuyen al cambio de incidencia y del cariz que ofrece este serio problema clínico.

1.4. PATOGENIA Y ANATOMIA PATOLOGICA

Es conocido que las bacterias pueden atravesar la pared intestinal por la vía del sistema linfático y pasar a la corriente sanguínea⁽¹⁾. Se ha demostrado sobre todo en modelos de experimentación animal⁽²⁻⁴⁾. Es la teoría de la *traslocación de las bacterias* que sugiere que en situaciones de estrés tales como grandes quemaduras, traumatismos, sepsis y shock, se altera la pared intestinal y permite el paso de bacterias, antígenos y endotoxinas a la corriente sanguínea produciéndose la respuesta de los mediadores de la inflamación⁽⁴⁾. Por lo tanto, la mayor parte de las bacterias causantes de la sepsis por gramnegativos son comensales normales del tubo digestivo, desde él se diseminan a las estructuras contiguas, como en la peritonitis que sigue a la perforación del apéndice, si bien pueden emigrar desde el perineo a la uretra o a la vejiga.

La bacteriemia por gramnegativos se observa consecutivamente a un foco primario de infección situado generalmente en las vías genitourinarias, sistema biliar, tubo digestivo o pulmones y con menos frecuencia en la piel, huesos y articulaciones. La piel o los pulmones son puertas de entrada frecuentes en los quemados y en los enfermos leucémicos.

En un 30% aproximadamente de enfermos no se advierte ningún foco primario, especialmente en pacientes con procesos debilitantes, cirrosis y cáncer.

Las bacteriemias por grampositivos suelen proceder de la piel o del aparato respiratorio. La formación de abscesos metastásicos puede complicar la bacteriemia, sobre todo la causada por microorganismos grampositivos o por anaerobios.

Con frecuencia, sin embargo, los hallazgos de autopsia en la sepsis por gramnegativos reflejan principalmente la infección en el foco urinario y la participación de los órganos diana: edema pulmonar, hemorragia y formación de membrana hialina en los pulmones, necrosis tubular o cortical en el riñón, necrosis dispersas en el miocardio, ulceración o incluso necrosis hemorrágica en el tubo digestivo y formación de trombos leucocito-plaquetarios o, con menor frecuencia de fibrina, en los capilares de muchos tejidos.

1.5. FISIOPATOLOGIA

En cuanto al riego sanguíneo y la función de los órganos, se establece un círculo vicioso que acaba provocando un flujo sanguíneo alterado en la microcirculación y una agresión progresiva del endotelio capilar y los tejidos. A menos que ese círculo se interrumpa, dominando la infección y corrigiendo las alteraciones hemodinámicas y metabólicas, suele producirse la muerte.

1.5.1. FACTORES MICROBIANOS

Los factores microbianos de importancia son las endotoxinas o lipopolisacáridos (LPS) de los agentes gramnegativos, sobre todo el componente lipídico A, el péptidoglicano asociado a los ácidos teicóicos de los microorganismos grampositivos o los polisacáridos de manosa de la pared celular de los hongos, ciertos polisacáridos y enzimas extracelulares (p.ej., estreptocinasa) o toxinas (enterotoxinas del estafilococo en el shock tóxico, etc.).

El LPS es un integrante estructural de la membrana externa de las bacterias gramnegativas. La endotoxina está compuesta por el antígeno de superficie (antígeno O), el oligosacárido central (*core*) y un disacárido β -D-aminoglucosa-(1-6)- α -D-glucosamina con dos grupos fosforilo en posición 1' y 4'. Este último componente es el denominado "lípidio A" y confiere al LPS sus características tóxicas. El mecanismo de acción del LPS y el lípidio A consiste en que pueden activar directamente los sistemas humorales o celulares que provocan la aparición de los síndromes de la sepsis y del shock.

Aunque no se han precisado bien, otros productos microbianos afectan a los mismos sistemas en grado variable.

1.5.2. MEDIADORES DEL HUESPED

Diversos mediadores del huesped están involucrados en la patogenia de la sepsis abarcando a la cascada de las citocinas, las proteínas de fase aguda, los metabolitos activos del complemento y los sistemas de la coagulación, así como factores liberados por las células

estimuladas, enzimas y oxidantes de los leucocitos polimorfonucleares (PMNs), péptidos vasoactivos (p.ej., histamina) y productos del metabolismo del ácido araquidónico.

Las fases que se desarrollan desde el momento en que se produce la lesión en un tejido comienzan con la liberación por parte de las propias células dañadas de ciertas citocinas al torrente circulatorio que, posteriormente, llegan al hígado donde producen las señales necesarias para que los hepatocitos comiencen a sintetizar las proteínas de fase aguda.

1.5.2.1 CITOCINAS

De las diversas citocinas (monocinas y linfocinas), factores de crecimiento y factores hematopoyéticos ya secuenciados, algunos son considerados relevantes (quizá sólomente estén mejor caracterizados) en las respuestas inmunes no específicas, como son las interleucinas: IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, el factor de necrosis tumoral (TNF) y los factores hematopoyéticos: Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF)⁽⁵⁾.

1.5.2.1.1. Factor de Necrosis Tumoral (TNF)

El *TNF* es, sin duda, el mediador principal de los efectos destructivos de la endotoxina. Su función primordial es iniciar la cascada de citocinas durante la respuesta inflamatoria.

Existen dos proteínas con un 30% de homología en su secuencia de aminoácidos, denominadas *TNF- α* o *caquectina* (producida fundamentalmente por macrófagos, neutrófilos, astrocitos, células endoteliales y miocitos) y *TNF- β* o *linfotoxina- α* (producida exclusivamente por linfocitos)⁽⁵⁾. El estudio de la forma de *TNF- β* asociada a la membrana puso de manifiesto su estructura dimérica, compuesta por *TNF- β* y una proteína transmembrana de 33 kdal denominada actualmente *linfotoxina- β* ⁽⁶⁾. Recientemente, otros nuevos miembros de la familia *TNF* han sido descritos, éstos ejercen de ligandos de diversos antígenos de membrana en linfocitos T (reconocidos por los anticuerpos monoclonales CD27L, CD30L, CD40L), aunque sus implicaciones biológicas son prácticamente desconocidas⁽⁷⁻⁹⁾.

El TNF- α aumenta la salida de los neutrófilos marginales, y favorece la actividad antimicrobiana de monocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, induce una respuesta no específica de fase aguda, caracterizada por fiebre y anorexia, además aumenta la degradación de músculo esquelético para producir aminoácidos como precursores para la gluconeogénesis y sustratos para la síntesis de proteínas necesarias en la remodelación de los tejidos dañados. Sin embargo, cuando se producen concentraciones agudas excesivas o incrementos progresivos durante mucho tiempo, los beneficios pueden tornarse en efectos adversos como: edema pulmonar, inflamación pulmonar intersticial, hemorragia, y congestión; necrosis tubular renal aguda y formación de trombos renales; inflamación hepática aguda, hemorragia y necrosis adrenocortical y medular; precipitándose el fracaso multiorgánico.

1.5.2.1.2. Interleucina 1 (IL-1)

La *IL-1* abarca un amplio frente de funciones biológicas, desde la inducción de respuestas celulares muy específicas hasta la activación de un sistema orgánico en su totalidad. Induce la síntesis de mediadores de la inflamación y de la respuesta inmune, como prostanoides sintetizados por las células endoteliales, proteínas de fase aguda procedentes del hígado, ACTH liberada en el sistema nervioso central, insulina originada en el páncreas, IL-2, IL-4, y GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos) liberadas por los linfocitos T y TNF- α e IL-6 por los macrófagos.

En situaciones basales, la IL-1 es producida solamente por queratocitos y ciertas células epiteliales y del sistema nervioso central. Sin embargo, ante estímulos inflamatorios o microbianos, tanto macrófagos como neutrófilos y células endoteliales producen cantidades ingentes de IL-1⁽⁵⁾.

En modelos animales, la administración de dosis bajas de IL-1 provoca un estado parecido al de shock con los síntomas típicos de taquicardia, disminución (>50%) de la tensión arterial media, acidemia láctica, e iniciación de la cascada proinflamatoria con un aumento rápido en la concentración de IL-6.

Esto puede sugerir que existe un estrecho margen terapéutico entre la concentración efectiva y la tóxica de IL-1, y que el aumento de la concentración sistémica tanto de TNF- α

como de IL-1 pueden estar relacionada con los efectos adversos hallados en el shock séptico por gramnegativos⁽¹⁰⁾.

1.5.2.1.3. Interleucina 6 (IL-6)

La *IL-6* es otra citocina multipotente, que estimula tanto las células del sistema inmune (linfocitos T, linfocitos B, macrófagos) como parenquimatosas (fibroblastos, hepatocitos, astrocitos y osteoblastos).

Los efectos biológicos *in vivo* no son conocidos en extensión, aunque es un mediador esencial de la respuesta inflamatoria e inmune durante el traumatismo o la infección, por ejemplo estimulando la producción de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actuando como un factor hematopoyético.

1.5.2.1.4. Interleucina 8 (IL-8)

La *IL-8* es la molécula más conocida de una familia de citocinas denominada quimoquinas o intercrinas, que se caracterizan por su bajo peso molecular (8-10 kD), su secreción inducible durante la inflamación y sus propiedades quimiotácticas para diferentes leucocitos.

1.5.2.1.5. Factores hematopoyéticos

Los *factores hematopoyéticos* fueron descritos inicialmente por su capacidad de sostener *in vitro* el crecimiento de células progenitoras en medios semisólidos hasta formar colonias de variada estirpe.

Posteriormente algunos de estos factores adquirieron otro nombre y fueron asignados a la familia de citocinas (p.ej., *multi-colony stimulating factor/IL-3*). Otros, sin embargo, mantuvieron su nomenclatura original, como el factor de formación de granulocitos (G-CSF), el factor de formación de granulocitos y monocitos (GM-CSF) y el factor de formación de monocitos (M-CSF).

Estos factores afectan a la maduración (hematopoyesis), supervivencia (apoptosis) y función (activación) de neutrófilos y monocitos, dos componentes esenciales de la fracción celular involucrada en la respuesta inflamatoria.

Los factores hematopoyéticos G-CSF y GM-CSF, además de sus acciones en la proliferación y diferenciación de células progenitoras en la médula ósea, pueden pre-sensibilizar e incluso activar neutrófilos, aumentando su capacidad de producción de radicales de oxígeno y fagocitosis.

También alteran el reclutamiento y exudación de leucocitos en lesiones inflamatorias, a través de dos mecanismos distintos, ya sea acelerando la maduración celular en la médula ósea (disminución del tiempo de tránsito de 6 a 1.5 días) o aumentando los neutrófilos circulantes a partir de células marginadas en el compartimento vascular periférico (demarginación de un 10% por hora)⁽⁵⁾.

1.5.2.2. PROTEINAS DE FASE AGUDA

Constituyen un grupo de 30 proteínas plasmáticas aproximadamente, que se sintetizan en grandes cantidades en el hígado en presencia de procesos inflamatorios. Todas ellas realizan un papel importante durante la inflamación o en el proceso de reparación posterior.

Son la primera línea de defensa antes de la reacción inmunitaria actuando como controladores de la difusión de la inflamación.

Las proteínas de fase aguda se dividen en dos tipos:

- Un grupo mayoritario de proteínas que experimentan un *aumento* de su concentración superior o igual a un 25%.
- Las proteínas que experimentan *disminuciones* de su concentración durante procesos inflamatorios.

La modificación en la concentración de las proteínas de fase aguda durante la inflamación probablemente promueve la activación de una serie de proteínas que actúan como mediadores inflamatorios o inhibidores de proteasas allí donde se ha producido la lesión. De esta manera, modulan el tipo de inflamación o sustituyen aquellas proteínas que hayan sido consumidas mientras desarrollaban su función.

La determinación de estas proteínas se utiliza para diagnosticar la presencia de una inflamación y monitorizar los cambios durante la actividad inflamatoria. Debido a que muchos procesos diferentes están relacionados con algún tipo de inflamación, la determinación de proteínas de fase aguda en la clínica puede ser muy diverso.

La cinética de los reactantes de fase aguda que incrementan su concentración plasmática —positivos— es muy diferente dependiendo de la semivida plasmática de cada uno de ellos. Podemos hacer una clasificación de las proteínas de fase aguda positivas más relevantes: en función del tiempo que tardan en aparecer en el plasma desde el momento en que se produce la lesión o daño

- Aparición en 6-8 horas:

Proteína C Reactiva (Prot.C.R.)

Proteína Sérica Amiloide

- Aparición en 24 horas:

α_1 Glicoproteína Ácida

α_1 Antitripsina

α_1 Antiquimotripsina

Fibrinógeno

Haptoglobina

- Aparición a las 48 horas:

Ceruloplasmina

C₃

C₄

Otros reactantes de fase aguda que disminuyen su concentración —Negativos— ante situaciones de inflamación son:

Prealbúmina

Proteína Transportadora de Retinol

Transferrina

Distintas Lipoproteínas

Albumina

Fibronectina (Fn)

1.5.2.2.1. Proteína C Reactiva (Prot.C.R.)

La Prot.C.R. es uno de los reactantes de fase aguda más sensibles. Su concentración plasmática aumenta en respuesta a una variedad de estímulos agudos o crónicos de tipo infeccioso, inflamatorio o de daño tisular.

La Prot.C.R. puede fijarse a los polisacáridos de bacterias, protozoos y hongos. Una vez se ha formado dicho complejo, la Prot.C.R. activa el sistema del complemento actuando sobre el C1q. Así pues, al igual que los anticuerpos, la Prot.C.R. puede iniciar la fagocitosis y posterior lisis de las células extrañas como respuesta a una reacción inflamatoria. También es capaz de reconocer y fijar sustancias potencialmente tóxicas liberadas por los tejidos lesionados para poder ser después eliminados.

Su determinación se aconseja en los siguientes casos:

- Para conocer el estado de un proceso inflamatorio como la artritis reumatoide.
- Para la detección de enfermedades recurrentes como el lupus eritematoso sistémico o en pacientes con leucemias.
- En estados postoperatorios y en rechazos de trasplantes renales.
- En sepsis y meningitis neonatal.

Se detectan niveles altos en el infarto agudo de miocardio, traumatismos, intervenciones quirúrgicas, infecciones e inflamaciones.

1.5.2.2.2. α_1 Antitripsina

La α_1 antitripsina es una proteína de fase aguda con actividad antiproteasa, por ello su concentración aumenta en los procesos inflamatorios.

Su función principal es la de neutralizar la elastasa lisosómica liberada por los neutrófilos polimorfonucleares durante la fagocitosis. También neutraliza la colagenasa y actúa frente a otras proteínas como la quimiotripsina, la renina, la uroquinasa, la plasmina, la calicreína y la trombina.

Existen numerosas variantes genéticas de α_1 antitripsina, de las cuales la más frecuente y la de mayor actividad antiproteasa es la variante M. Las otras variantes tienen poca actividad por

lo que su presencia condiciona una deficiencia de esta proteína. En algunos casos, puede darse incluso deficiencia congénita de α_1 antitripsina.

Se detectan niveles elevados en inflamaciones agudas, procesos malignos, traumatismos y en procesos de necrosis; así mismo se constatan niveles bajos en procesos que cursan con una pérdida severa de proteínas, en aquellos individuos con déficit congénito de dicha proteína y en síndromes respiratorios neonatales. La deficiencia congénita se asocia a enfisema pulmonar precoz y a lesiones hepáticas crónicas de aparición temprana.

1.5.2.2.3. α_1 Glicoproteína Ácida (Orosomucoide)

La α_1 glicoproteína ácida (orosomucoide) es una proteína plasmática de síntesis fundamentalmente hepática. Su principal utilidad diagnóstica es la de monitorizar la reacción de fase aguda ya que sus niveles aumentan considerablemente durante periodos inflamatorios agudos o crónicos recurrentes.

Recientes estudios también la relacionan con los procesos de coagulación o con la formación del colágeno.

Se miden niveles altos en procesos inflamatorios como artritis reumatoide o la enfermedad de Crohn, en infartos agudos de miocardio y en neoplasias malignas. Niveles bajos de α_1 glicoproteína ácida se hallan en ciertas enfermedades hepáticas, en casos de malnutrición y en gastroenteropatías con pérdida protéica.

1.5.2.2.4. Haptoglobina

La haptoglobina es una proteína de fase aguda que se sintetiza en el hígado. Su determinación seriada es útil para la detección y monitorización de las reacciones de fase aguda y de los estados hemolíticos.

Sus niveles no siempre se detectan desde el momento del nacimiento pero aproximadamente a los 6 meses, una vez la maduración hepática ha terminado, es cuando se alcanzan los valores definitivos del adulto.

También está descrita una enfermedad hereditaria caracterizada por la ausencia de haptoglobina (anhaptoglobinemia).

Se le conocen dos funciones principales:

1. Fija la oxihemoglobina libre en plasma evitando la pérdida de hemoglobina por orina y recuperando hierro.

2. Se comporta como una proteína de fase aguda.

Se miden niveles altos en inflamaciones crónicas y agudas, en síndromes nefróticos y en presencia de quemaduras. Se detectan niveles bajos en hepatopatías severas, hemólisis intravasculares, anemias hemolíticas, transfusiones y casos de malaria.

1.5.2.2.5. Prealbúmina

La prealbúmina es una proteína de transporte no glicosilada de síntesis hepática.

Desde el punto de vista diagnóstico, la prealbúmina es una proteína de fase aguda negativa, es decir, sus niveles disminuyen en procesos inflamatorios.

La prealbúmina también se determina como marcador del estado nutricional de los pacientes, ya que su concentración disminuye rápidamente cuando se produce una pérdida de proteínas y/o calorías.

Otra de las funciones de la prealbúmina es la de poder fijar tiroxina y triiodotironina. A pesar de ello, sólo una pequeña porción de hormonas tiroideas circula ligada a la prealbúmina. Existe, sin embargo, una variante genética de prealbúmina que presenta una afinidad muy elevada por la tiroxina y provoca concentraciones séricas altas de dicha hormona en individuos eutiroidales.

Se detectan niveles altos de prealbúmina en la enfermedad de Hodgkin y en la ingestión de anabolizantes o anticonceptivos orales; y niveles bajos en inflamaciones, procesos malignos, cirrosis hepáticas, enteropatías y nefropatías que se acompañen de pérdidas protéicas.

1.5.2.2.6. Factores C₃ y C₄ del Sistema del Complemento.

Son proteínas plasmáticas que se consideran proteínas de fase aguda.

Forman parte de un conjunto de proteínas que se conocen con el nombre de complemento y que interactúan con los complejos antígeno-anticuerpo y con las membranas celulares, produciendo la destrucción de virus y bacterias e incluso, en casos patológicos, de las células del propio organismo. El complemento puede ser activado bien por complejos antígeno-anticuerpo, o bien por otros factores. Estos últimos permiten una respuesta inmediata y no específica frente a agentes infecciosos.

La concentración sérica aumenta en las reacciones de fase aguda y disminuye en enfermedades infecciosas o autoinmunes en las que se forman inmunocomplejos que permanecen unidos a los tejidos activando al complemento. En algunos casos, ambas condiciones coexisten, dado que además de la respuesta inmunológica, se produce una destrucción tisular que da lugar a la respuesta de fase aguda.

Se detectan niveles altos en las reacciones de fase aguda; y niveles bajos en artritis reumatoide, fiebre reumatoide, enfermedades autoinmunes, glomerulonefritis, anemias inmuno-hemolíticas, infección por bacterias gramnegativas, enfermedades renales, pacientes en diálisis y en casos de deficiencia congénita.

1.5.2.2.7. Ceruloplasmina

Es una proteína de fase aguda que se sintetiza en el hígado. Los niveles plasmáticos varían con la edad. Su concentración es menor en el momento del nacimiento y aumenta progresivamente hasta la edad adulta, donde la concentración se sitúa entre 0.2-0.4 g/L.

A la ceruloplasmina se le atribuyen las siguientes funciones:

- Junto con la transferrina, es la responsable de la mayor parte de la actividad antioxidante plasmática.

- Cataliza rápidamente la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} . Esta actividad ferroxidasa es esencial para que el Fe^{+2} pueda unirse a la transferrina.

- La síntesis de ceruloplasmina es un mecanismo de defensa frente a la toxicidad potencial por Cu^{+2} ya que es capaz de fijar gran cantidad de cobre.

Se detectan niveles altos en embarazadas, la administración de anticonceptivos orales, procesos malignos, traumatismos, obstrucciones e infecciones de la vía biliar y en la enfermedad

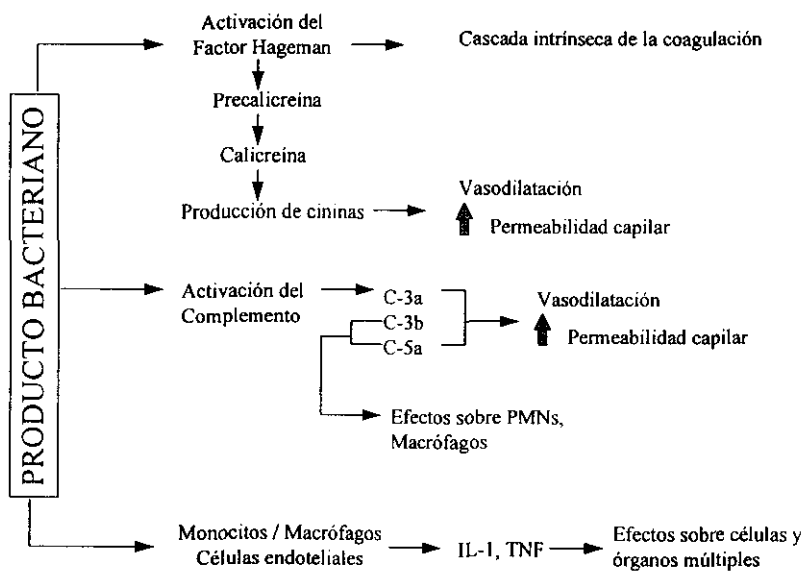
de Hodgkin. Se miden niveles bajos en síndromes nefróticos, casos de malnutrición, hepatopatías severas, enfermedad de Wilson y en casos de deficiencias de absorción de cobre.

1.5.2.3. OTROS MEDIADORES DE LA INFLAMACION

La secreción y actuación de las sustancias vasoactivas contrarreguladoras, como las catecolaminas, angiotensina, hormonas hipofisarias y el glucagón contribuyen a los acontecimientos clínicos y de laboratorio de la sepsis.

Resumiendo, la secuencia de fenómenos producidos en la sepsis comienza con el desprendimiento de los productos bacterianos, los cuales inician la cascada de acontecimientos de naturaleza inflamatoria por la unión a receptores encontrados en los leucocitos mononucleares (monocitos y macrófagos). Esta unión activa al resto de leucocitos y como consecuencia se produce la secreción de ciertas citocinas entre las que se encuentran las más importantes que son IL-1 y TNF- α . Estas dos citocinas modifican la resistencia y la permeabilidad vascular, el rendimiento cardíaco y la función de la médula ósea. Además, influyen en la actividad de algunos enzimas como la lactato deshidrogenasa y la lipoproteínlipasa.

Gráfico 1. Esquema de las interacciones entre los productos bacterianos y los sistemas mediadores humorales y celulares del huésped en la sepsis. PMNs=leucocitos polimorfonucleares; IL-1=interleucina 1; FNT=factor de necrosis tumoral.



Por consiguiente, IL-1 y TNF- α , ambos, contribuyen directa o indirectamente al estado séptico.

El aumento de TNF- α y de IL-1, que continúa incluso en ausencia de elevación en la concentración de endotoxina, es un fenómeno de corta duración. Sin embargo, estas dos citocinas proinflamatorias estimulan la producción de otras citocinas inflamatorias que perpetúan la cascada de la sepsis. Particularmente importante es el desprendimiento local de IL-8, la cual activa a los neutrófilos que causan daño tisular y disfunción orgánica. Se produce una liberación importante de IL-8 en respuesta a pequeñas concentraciones de IL-1. Otros mediadores liberados son IL-6, factor activador de plaquetas, prostaglandinas y leucotrienos, que son los responsables de la activación del complemento, de la coagulación y de la cascada de las kininas. Por otro lado, también se produce la liberación de sustancias anticitocinas específicas como son IL-4 e IL-10, que tienen acción fundamentalmente antiinflamatoria disminuyendo la síntesis de IL-1 y TNF- α .

1.6. MANIFESTACIONES CARDIOPULMONARES

Las manifestaciones cardiovasculares de la sepsis y el shock séptico pueden distinguirse de las propias del shock hipovolémico o cardiogénico en que las resistencias vasculares periféricas (RVP) son bajas y el gasto cardíaco está elevado. Se produce un mal reparto del flujo sanguíneo en la microcirculación, probablemente por la acción de diversos vasodilatadores y vasoconstrictores. La salida de los componentes del plasma desde los capilares contribuye a la hipovolemia funcional. Además, cerca de la mitad de los enfermos muestran depresión de la función contráctil del corazón.

Si el tratamiento es satisfactorio, tanto las RVP como la función miocárdica vuelven a la normalidad en el plazo de unos días. La muerte, en cambio, se acompaña de hipotensión refractaria y RVP persistentemente bajas, acidosis láctica progresiva y signos de fracaso múltiple de los órganos, a pesar de la administración de líquidos, sustancias vasopresoras y antibióticos.

La hiperventilación es una primera respuesta característica de la sepsis, que lleva a una alcalosis respiratoria de intensidad variable. El mecanismo exacto de esa hiperventilación inicial aún no se ha definido, pero más tardíamente contribuyen a ella el encharcamiento pulmonar, la menor distensibilidad, el estímulo de los receptores de distensión alveolar y el edema pulmonar

incipiente o manifiesto. La hipoxemia y el aumento del lactato en sangre también producen hiperventilación a través de mecanismos centrales (en el cerebro).

El rápido desequilibrio de la ventilación-perfusión en la sepsis ocasiona un descenso de la pO_2 arterial. A medida que empeora la sepsis, aumenta el gradiente alveolo-arterial de oxígeno que, con frecuencia, es un indicador de la lesión pulmonar, la cual acaba por manifestarse plenamente en forma de un síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA).

1.7. REACCIONES METABOLICAS

Los niveles de lactato sanguíneo se elevan precozmente en la sepsis, en el seno de una alcalosis respiratoria. En fases tardías, también están muy aumentados los niveles de lactato predominando la acidosis metabólica.

Si bien la mayor producción de lactato por los tejidos mal irrigados puede contribuir a esa hiperlactacidemia, el papel principal parece desempeñarlo la menor eliminación del lactato por el hígado y los riñones.

En fases tardías del shock séptico generalizado, el riego sanguíneo disminuido y el empleo de agentes vasoconstrictores también pueden agravar la acidosis.

Durante la sepsis se producen en el plasma elevaciones de multitud de hormonas como la hormona adrenocorticotropa (ACTH), hormona del crecimiento (GH), vasopresina (AVP) glucagón, insulina y cortisol; también se detectan niveles elevados de catecolaminas, lípidos y aminoácidos.

Algunas respuestas hormonales pueden exacerbar la hiperglucemia de los diabéticos contrarrestando la acción de la insulina y favoreciendo la cetosis. A la inversa, algunos enfermos con sepsis muestran hipoglucemia. El mecanismo no se conoce del todo, pero pueden colaborar las reservas disminuidas de glucógeno hepático (neonatos, inanición y hepatopatías previas) y una liberación excesiva de insulina.

1.8. COMPLICACIONES

1.8.1. INSUFICIENCIA RESPIRATORIA

La sepsis es la principal causa del SDRA. También puede contribuir a su instauración la excesiva administración de líquidos intravenosos.

Las manifestaciones características son un aumento progresivo del gradiente alveolo-arterial de oxígeno y el desarrollo de infiltrados pulmonares difusos.

Histológicamente, los pulmones muestran edema, hemorragias, atelectasias, formación de membrana hialina y trombos capilares de plaquetas-PMN-fibrina.

El SDRA aparece en el 20 a 45% de los enfermos con una sepsis grave. Cuando este síndrome se manifiesta como consecuencia de una sepsis, las tasas de mortalidad en la mayor parte de los estudios oscilan entre el 80 y el 90%, siendo las neumonías secundarias complicantes las responsables de muchas de las muertes que sobrevienen tardíamente (más de 48 horas).

1.8.2. DEFECTOS DE LA COAGULACION

Hasta en un 70% de enfermos con sepsis se observa trombopenia leve (de 100.000 a 150.000 plaquetas/ μ L) o moderada (de 50.000 a 100.000 plaquetas/ μ L) debida a los efectos directos del LPS, así como a la activación de la agregación plaquetaria por mecanismos múltiples. Los recuentos de plaquetas inferiores a 50.000 plaquetas/ μ L (sin fallo medular previo) suelen acompañarse de signos de coagulación intravascular diseminada (CID). También contribuye a este síndrome la activación del factor Hageman, además del activador del plasminógeno liberado por los macrófagos y las células endoteliales. La aparición de un claro síndrome de CID en la sepsis es un signo de pronóstico ominoso.

1.8.3. INSUFICIENCIA RENAL

La mayoría de los enfermos mostrarán signos de isquemia o de lesión renal como oliguria, hiperazoemia, proteinuria de intensidad variable y aparición de células tubulares y epiteliales y cilindros granulosos groseros en la orina. Las complicaciones tardías son la necrosis tubular aguda (NTA) o, rara vez, la necrosis cortical bilateral como expresión de una reacción generalizada de Schwartzman.

1.8.4. OTROS ORGANOS

En la sepsis y en otros cuadros de shock en fase terminal pueden verse necrosis miocárdicas dispersas con fallo cardíaco, necrosis hemorrágica del intestino y necrosis hepática.

1.9. MANIFESTACIONES CLINICAS

El comienzo brusco de un cuadro de sepsis franca con fiebre, escalofríos, taquicardia, taquipnea, cambios en el estado mental e hipotensión se identifica fácilmente. Sin embargo, durante las primeras fases de la sepsis y dependiendo de diversos factores del huésped (edades extremas, enfermedades subyacentes, tratamiento con glucocorticoides), las manifestaciones clínicas pueden ser sutiles y el diagnóstico difícil.

La *fiebre* y los escalofríos son frecuentes, si bien hasta un 13% de enfermos pueden mostrar hipotermia, con temperaturas rectales menores de 36.5°C al comienzo de la sepsis y, en otro 5% de enfermos no hipotérmicos inicialmente, la temperatura no sube a más de 37.5°C. La ausencia de hipertermia es un signo de mal pronóstico principalmente en ancianos y en aquellos pacientes con procesos subyacentes, como alcoholismo y uremia. Hasta en un 40% de enfermos con hipotermia la causa es una infección grave o una bacteriemia. La mortalidad en este grupo es mayor que cuando la hipotermia es consecuencia de otra etiología diferente a la infecciosa.

La *hiperventilación con alcalosis respiratoria* y los *cambios mentales* son signos sumamente importantes, pues son precoces y con frecuencia anteriores al comienzo de la fiebre, escalofríos e hipotensión. En las fases iniciales de la sepsis, las alteraciones mentales pueden ser

leves, con desorientación y cambios en la personalidad como manifestación única; después, pueden apreciarse cambios más evidentes de embotamiento sensorial y coma. Los hallazgos son más acusados en recién nacidos, ancianos y en aquellos sujetos que tienen una enfermedad previa del sistema nervioso central, aunque pueden aparecer en cualquier paciente.

Las *manifestaciones cutáneas* se producen con frecuencia variable, son diversas en su presentación y no suelen ser específicas del síndrome de la sepsis. Sin embargo, son muy importantes, ya que una tinción de Gram sobre un raspado de piel puede confirmar la presencia de la sepsis y orientar un diagnóstico microbiológico preliminar. Cuando las bacterias o los hongos invaden la piel, suelen aparecer pústulas o lesiones vesiculopustulosas. En algunas infecciones por gramnegativos, concretamente en las causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, puede haber lesiones cutáneas ampollosas o necrosantes denominadas ectima gangrenosos. La sepsis asociada a CID suele acompañarse de acrocianosis y eventual necrosis de los tejidos periféricos (orejas, punta de la nariz y de los dedos de manos y pies).

Las *manifestaciones digestivas* se presentan en un tercio aproximadamente de los enfermos. Consisten en náuseas, vómitos, diarrea o íleo, y pueden motivar confusión en el diagnóstico de sepsis, al sugerir la posibilidad de una gastroenteritis aguda. Puede haber hemorragia digestiva alta; por endoscopia, a veces, se detectan pequeñas úlceras gástricas o duodenales. La prevalencia y aparición de las ulceraciones es similar a la observada en otros procesos de estrés sistémico extremo (p.ej., traumatismos craneales graves). Puede aparecer ictericia leve a moderada relacionada con un defecto de la secreción biliar inducido por la sepsis. Con menor frecuencia aparece una necrosis hepática originada por el shock.

1.10. DATOS DE LABORATORIO

En la sepsis, los hallazgos de laboratorio son variables y dependen principalmente de si se han producido lesiones de órganos y otras complicaciones del shock.

Dentro de los neutrófilos pueden observarse granulaciones tóxicas, cuerpos de Döhle y vacuolas intracitoplasmáticas. Con frecuencia aparece trombopenia que, cuando es intensa (menos de 50.000 plaquetas/ μ L), suele ser la manifestación de un CID simultáneo y se acompaña

de un tiempo de trombina prolongado, descenso del fibrinógeno y elevación de los productos de degradación de la fibrina.

Muchos enfermos pueden mostrar ligeras alteraciones en la orina, como proteinuria. Si hay shock, puede aparecer necrosis tubular aguda (NTA) con oliguria, hiperazoemia y cilindros epiteliales y granulosos. En enfermos con función renal normal, la excreción de sodio es baja (menos de 20 mEq/L) en las fases iniciales del shock, pero se eleva si existe NTA o al usar diuréticos.

En las fases precoces de la sepsis se detecta alcalosis respiratoria y la gasometría muestra un pH alto con pCO₂ disminuida. Cuando hay shock, aparece una acidosis metabólica con elevación del lactato. Existe hipoxemia de intensidad variable, siendo más acusada cuando se desarrolla un SDRA.

Los cambios en la radiografía de tórax pueden consistir en una neumonía subyacente como foco de origen de la sepsis, signos de insuficiencia cardíaca como consecuencia de la depresión miocárdica y de la expansión de volumen que sigue a la hidratación, o en infiltrados difusos del SDRA.

La hipoglucemia es una manifestación poco frecuente de una sepsis fulminante. La mayoría de los diabéticos tendrán hiperglucemia siendo la infección grave la causa principal de la cetoacidosis diabética que puede contribuir al desarrollo del shock.

Las alteraciones de los iones séricos pueden consistir en un gran vacío aniónico, con disminución de los niveles de bicarbonato y acidosis metabólica.

Las alteraciones de las pruebas de función hepática comprenden una ligera hiperbilirrubinemia y elevación de las transaminasas que pueden ser más acusadas en el shock grave. La hipoalbuminemia, leve al principio, puede acentuarse conforme persiste el shock y sobreviene la desnutrición.

Raramente se ven cambios en las cifras de calcio y fósforo.

Para ayudarnos al diagnóstico diferencial en la etiología de los diversos síndromes inflamatorios disponemos de un amplio panel de proteínas, pero han de seleccionarse únicamente aquellas que sean las más adecuadas. Para ello, se recomienda que se determinen una de las de cinética rápida (p.ej. Prot.C.R.), una o dos de las de cinética media (p.ej. α_1 glicoproteína ácida, haptoglobina) y otra de las que disminuyen su concentración (p.ej.

prealbúmina). Opcionalmente se pueden medir algunas interleucinas, aunque éstas plantean actualmente algunos inconvenientes como problemas en la conservación de las muestras, gran efecto matriz, falta de estandarización en los métodos de medida y que, en muchos casos, sería recomendable la medición de actividad biológica en lugar de concentración.

1.11. ALTERACIONES EN EL ELECTROCARDIOGRAMA

El electrocardiograma (ECG) suele mostrar alteraciones inespecíficas de las ondas ST-T; están indicados los ECG seriados como en cualquier enfermo hipotenso para excluir un infarto de miocardio.

1.12. DIAGNOSTICO DE SEPSIS

1.12.1. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

El diagnóstico y la etiología de la sepsis se confirman al aislar los microorganismos patógenos en la sangre u otros lugares de infección.

Como la bacteriemia generalmente es intermitente y poco acusada (menos de 10 microorganismos/mL de sangre), con una sola muestra de sangre de poco volumen (5 a 10 mL), extraída antes de iniciar el tratamiento antibiótico, se suelen obtener cultivos positivos únicamente en el 50-60% de los casos. El rendimiento diagnóstico es mayor si se obtiene una sola muestra sanguínea de más volumen (30 mL) y se reparte por igual en tres frascos de cultivo. Los hemocultivos suelen ser positivos a los tres días de incubación; si no lo son, suele deberse al carácter intermitente de la bacteriemia, a la administración previa de antibióticos o a la presencia de microorganismos delicados o de crecimiento lento.

En varios estudios prospectivos importantes sobre hemocultivos en el shock séptico, sólo se logró positividad en el 50 a 60 % de los enfermos; el diagnóstico de sepsis se hizo al comprobar una infección localizada.

Una tinción de Gram y un cultivo del punto primario de la infección o de las lesiones cutáneas, si las hay, son esenciales para establecer el diagnóstico, precisar la etiología y aplicar un tratamiento inmediato.

En algunos casos, puede hacerse un diagnóstico rápido de bacteriemia tiñendo con Gram la capa leucocitaria de la sangre. Aunque los resultados son contradictorios, se ha señalado que esta sencilla técnica da resultados positivos en un porcentaje que oscila entre el 10 y el 50% de los enfermos con bacteriemia.

La presencia de vacuolas intracitoplasmáticas en los neutrófilos también puede guardar paralelismo con la existencia de la bacteriemia.

1.12.2. DIAGNOSTICO CLINICO. NUEVAS RECOMENDACIONES

En las etapas iniciales de la sepsis o cuando el cuadro reviste menor gravedad el diagnóstico suele ser dificultoso dado que muchos signos y síntomas son inespecíficos. Sin embargo, el diagnóstico de sepsis suele ser obvio ante un paciente febril, con foco primario, al que le sobreviene un shock o el fracaso de ciertos órganos.

La aparición de hiperventilación, siendo normal la radiografía de tórax, y una inexplicable confusión mental o desorientación, también pueden sugerir la posibilidad de una sepsis.

Otros procesos que a menudo se confunden con estados sépticos son el infarto de miocardio, embolia pulmonar, intoxicación medicamentosa, hemorragia oculta, taponamiento cardíaco, rotura de aneurisma aórtico y disección aórtica.

Dada la gran importancia en cuanto a morbilidad y mortalidad que tiene esta patología, existe un gran número de trabajos y estudios cuyo único fin es ayudar al diagnóstico y tratamiento de esta patología. Sin embargo, la interpretación de los resultados ha sido difícil debido al uso indiscriminado y poco ortodoxo de ciertos términos como son *infección*, *bacteriemia*, *sepsis*, *septicemia*, *síndrome séptico* y *shock séptico*. Una fuente adicional de confusión ha sido la aplicación del término sepsis y síndrome séptico a estados inflamatorios no infecciosos.

Según las últimas recomendaciones hechas por el "American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee" (ACCP/SCCM)⁽¹¹⁾ ha de adoptarse la siguiente terminología:

Infección.- fenómeno microbiológico caracterizado por una respuesta inflamatoria ante la presencia de microorganismos o la invasión de tejidos estériles de un huésped por estos organismos.

Bacteriemia.- presencia de bacterias viables en la sangre.

Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS).- es la respuesta inflamatoria sistémica del organismo ante determinados ataques clínicos severos. Esta respuesta puede tener una etiología infecciosa, aunque existen otros eventos capaces de desencadenarla, como son: pancreatitis no infecciosas, grandes quemaduras, traumatismos, shock hemorrágico, isquemia, así como la administración exógena de determinados mediadores inflamatorios como TNF u otras citocinas^(11,5,12,10).

Sepsis: es la respuesta del organismo a la infección^(13,14,11) cuando el SRIS es el resultado de un proceso infeccioso confirmado. Los cambios fisiológicos son observados en ausencia de otras causas conocidas que los justifiquen.

1.13. PRONOSTICO

El pronóstico de la sepsis por gramnegativos depende más de los factores del huésped que de la virulencia de los microorganismos.

Un condicionante principal de la mortalidad es la presencia de enfermedades subyacentes: los pacientes con enfermedades rápidamente mortales (p.ej., leucemia aguda), tienen tasas de mortalidad más elevadas que los pacientes con enfermedades no mortales o mortales a más largo plazo (en 5 años).

A excepción de *Pseudomonas aeruginosa*, cuya infección se asocia a mayor mortalidad, el microorganismo específico no es un determinante principal del pronóstico.

La aparición de complicaciones como el shock, acidosis láctica, CID y SDRA contribuyen a un mal pronóstico.

Otros factores menos importantes que se acompañan de mayor mortalidad son la hiperazoemia, la ausencia de fiebre, las infecciones polimicrobianas y una bacteriemia elevada (más de 10 microorganismos/mL de sangre). A la inversa, un tratamiento antibiótico apropiado se acompaña de más supervivencia.

La mortalidad global de la sepsis por gramnegativos es del 25% aproximadamente; la mayor parte de los casos mortales suceden en las primeras 48 horas. Estos fallecimientos rápidos suelen deberse a problemas agudos como el shock irreversible. Las muertes que se producen pasadas 48 horas, suelen deberse a la persistencia de una infección mal controlada o a otras complicaciones de los cuidados intensivos.

1.14. TRATAMIENTO

1.14.1 TRATAMIENTO CLASICO

La sepsis y el shock séptico pueden contrarrestarse con un tratamiento agresivo de la infección subyacente y una escrupulosa vigilancia de la función hemodinámica y respiratoria dirigidas a asegurar un riego sanguíneo y una oxigenación suficiente a los órganos vitales.

Las pautas a seguir son las siguientes:

1ª. Corregir la enfermedad subyacente.

2ª. Eliminar la fuente de infección mediante drenaje...etc.

3ª. Sostén de la respiración. Se debe administrar suficiente oxígeno por vía nasal o mascarilla para mantener la saturación de oxígeno en sangre arterial por encima del 95%. Si aparece insuficiencia respiratoria, debe acudir a la intubación con ventilación mecánica.

4ª. Mantenimiento hemodinámico con administración de líquidos. Una vez se ha conseguido hidratar al paciente, debe administrarse un diurético como la Furosemida para mantener la diuresis horaria por encima de 20 mL/hora y para impedir la aparición de edema

pulmonar. Si la administración de líquidos no consigue elevar la presión arterial, deben aplicarse sustancias presoras como la Dopamina, Dobutamina (en los enfermos con gasto cardíaco bajo) o Noradrenalina que se reserva para cuando la presión arterial no puede mantenerse por otros medios.

5ª. Tratamiento de la acidosis y CID. La acidosis y la CID suelen resolverse al tratar la infección subyacente y mejorar el riego sanguíneo a los tejidos. Si el pH desciende por debajo de 7.20 debe indicarse bicarbonato sódico. La CID asintomática (únicamente con alteraciones de laboratorio) o leve no requiere tratamiento específico. Si se producen hemorragias importantes, es prudente la reposición de plaquetas y de los factores de la coagulación. Es discutible el empleo de heparina y de agentes fibrinolíticos.

6ª. Antibióticos. Deben administrarse tan pronto como el diagnóstico de sepsis se sospeche con vehemencia. Antes de aplicarlos hay que obtener hemocultivos y muestras de los principales líquidos corporales y exudados para cultivarlos. La identificación de una puerta de entrada o de un foco localizado de infección puede servir de guía para el tratamiento antibiótico inicial. Si se carece de estos datos, es importante advertir que los signos y síntomas de la sepsis por microorganismos grampositivos y por gramnegativos son idénticos e indistinguibles por la clínica.

Cuando se plantea la elección de antibióticos, antes de disponer de los resultados de los cultivos, debe elegirse un antimicrobiano o una combinación de ellos que sean activos tanto para los microorganismos grampositivos como para los gramnegativos. Una vez que se obtienen los resultados de los cultivos, el tratamiento puede ser más específico.

Los fármacos deben administrarse por vía intravenosa y, en general, son preferibles los fármacos bactericidas a los agentes bacteriostáticos. La dosificación deberá ser la máxima aconsejada con el fin de asegurar unos niveles suficientes en sangre y tejidos.

Es importante conocer el patrón bacteriológico de la localidad para una elección inicial acertada. Muchos patógenos hospitalarios pueden ser sensibles solamente a fármacos potencialmente tóxicos, como los aminoglucósidos. En esos casos, aunque el enfermo tenga insuficiencia renal, suele ser necesario administrarlos para garantizar un tratamiento adecuado, teniendo en cuenta que la nefrotoxicidad de estos agentes suele tardar de 3 a 5 días en desarrollarse. Idealmente, durante ese tiempo los microorganismos causales deberían ser

identificados para poder sustituir los aminoglucósidos por otros agentes menos tóxicos. En la mayor parte de los casos, es suficiente un sólo fármaco para tratar una sepsis por un patógeno conocido.

El tratamiento combinado está indicado en los siguientes casos:

a) Como tratamiento inicial para abarcar a todos los patógenos posibles hasta conocer los resultados de los cultivos.

b) Para atacar a ciertos microorganismos en los que está comprobada la utilidad de los antibióticos sinérgicos, como *Pseudomonas aeruginosa* y enterococos.

c) Para tratar a enfermos inmunodeprimidos, especialmente los que tienen neutropenia.

1.14.2. NUEVAS PERSPECTIVAS TERAPEUTICAS. TERAPIA ANTIMEDIADORES

Dado que la administración de TNF, IL-1 o endotoxina producen un cuadro clínico similar al de la sepsis, se está ensayando la terapia anticitocinas durante la fase inicial del trauma o la infección.

La mayoría de las moléculas estudiadas hasta ahora son proteínas de alto peso molecular, producidas con tecnología recombinante, fácilmente hidrolizables perdiendo parte de su compleja estructura terciaria que es indispensable para la interacción con los receptores.

El conocimiento de la estructura tridimensional de los receptores y de los binomios receptor/ligando, enzima/segundo mensajero y factor transcripción/promotor del gen, permitirá en el futuro la síntesis de otras moléculas de bajo peso.

1.14.2.1. Macromoléculas

1.14.2.1.1. Anticuerpos

a) Anticuerpos antiendotoxina frente al sitio activo de la endotoxina, lípido A, son los anticuerpos *monoclonales humanos* específicos *HA-1A*, y anticuerpos *monoclonales murinos* *E5*. Debido a la similitud del lípido A de las bacterias gramnegativas, podría existir una protección

universal cruzada, independientemente del tipo de bacteria. Los resultados conseguidos han sido contradictorios en los distintos ensayos realizados hasta ahora.

b) Anticuerpos humanos policlonales frente a la región core de la endotoxina, son los J5.

c) Anti-TNF, al ser el inductor principal de la cascada de las citocinas, nos permitiría la aplicación universal de esta modalidad de inmunoterapia, ya que el 50% de los pacientes con shock séptico y altos niveles de TNF no tienen causa infecciosa aparente o detectable o son ocasionados por bacterias grampositivas.

1.14.2.1.2. Antagonistas naturales de receptores

a) Antagonistas del receptor para IL-1, es el *IL-1ra* (*Interleukina 1 receptor antigen*): en estudios en fase III no se han podido confirmar los resultados preliminares positivos.

b) Antagonistas del receptor para TNF, es el *sTNFRp55*; en humanos, en presencia de inflamación o infección local, la concentración sérica de los sTNFR se incrementa como una proteína de fase aguda inhibidora natural del TNF. Cuando existe una disminución de sTNFR, estas concentraciones inadecuadas han sido relacionadas con una mayor mortalidad en meningitis grave, sugiriendo la necesidad del aporte exógeno de sTNFR en infecciones graves.

c) Inmunoadhesinas inhibidoras del TNF- α : son moléculas homodiméricas constituidas por dos cadenas extracelulares del receptor TNFRp55 unidas a la fracción Fc de la cadena larga de la inmunoglobulina IgG₁. Estos inhibidores poseen vida media larga y mayor afinidad por el TNF- α .

d) Inhibidor natural de la endotoxina, la proteína *Bactericida/Incrementadora de la permeabilidad (BPI)* está siendo ensayada en pacientes. El BPI se une al LPS de la membrana de las bacterias gramnegativas y produce un aumento en la permeabilidad de la pared celular.

e) Precusores glucosamina del lípido A han sido descritos como antagonista de éste: *Lípido X, Lípido IVa*, etc.

f) Análogos sintéticos del lípido A; ejercen su acción a través de receptores distintos a los de la endotoxina y tienen una potencia 10^4 veces mayor que el Lípido A, careciendo por lo tanto de efectos tóxicos.

1.14.2.1.3. Factores hematopoyéticos

Son el *G-CSF* y el *GM-CSF*. Se ha demostrado la eficacia del *G-CSF* en la prevención y disminución de los episodios de infecciones por bacterias grampositivas, gramnegativas y hongos.

1.14.2.1.4. Terapias antiadhesión

La disfunción orgánica, base del fracaso múltiple de órganos en traumatismos y sepsis, comienza con el daño endotelial, que depende en parte de la activación intravascular de neutrófilos, su contacto físico con las células endoteliales y la producción y liberación de radicales libres de oxígeno al exterior, fuera del fagolisosoma.

Existen diversos estudios en animales de experimentación que demuestran que la depleción o inactivación de los neutrófilos con mostazas nitrogenadas o antisueros específicos disminuye notablemente el daño de los tejidos asociado a endotoxemia y el daño endotelial post-reperusión.

El primer paso para la exudación de neutrófilos es su enlace con las células endoteliales a través de receptores denominados *selectinas*, *integrinas* (*CD11/CD18*) y otros miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas son los denominados *intercellular adhesion molecule* (*ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3*)⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. En su fase inicial, el contacto entre los neutrófilos y las células endoteliales es mediado por dos receptores, el receptor constitutivo *selectina-L* en neutrófilos y el receptor inducible *selectina-E* en células endoteliales. Sus contrarceptores o

ligandos son oligosacáridos complejos denominados *adhesinas* (*GlyCAM-1*, *CE3A*)^(19,20). Posteriormente, estímulos quimiotácticos y *citocinas* (IL-8) liberados en el foco de inflamación local, producirán la pérdida de selectina-L, la expresión de receptores CD11/CD18 y cambios de conformación de los receptores, que facilitarán la emigración de neutrófilos al espacio extravascular. Estos cambios celulares se pueden monitorizar *in vivo* en pacientes con shock séptico o infecciones graves, analizando la concentración sérica de receptores solubles de E-selectina (concentración aumentada 20 veces) e ICAM-1 (concentración aumentada 3-4 veces)⁽²¹⁾ y la expresión de receptores integrina (CR3, CR4) en la membrana de neutrófilos⁽²²⁾. Una vez más, los resultados han sido dispares⁽²³⁻²⁹⁾.

1.14.2.1.5. Coadyuvantes del Sistema Reticulo Endotelial:

Fibronectina

La Fn es una glucoproteína de elevado peso molecular con múltiples acciones, una de ellas es la de favorecer la acción del SRE en la eliminación de tejidos necróticos y de microorganismos invasores.

Saba y su grupo⁽³⁰⁻³³⁾ fueron los primeros que ensayaron la terapia con crioprecipitado (plasma enriquecido de ocho a diez veces en Fn, pero además en otras proteínas plasmáticas como Fibrinógeno, Factor VIII, y factor von Willebrand) en pacientes que tenían niveles bajos de Fn plasmática. Consiguieron una gran mejoría en los pacientes pasadas las primeras 48 horas que consistió, fundamentalmente, en la disminución de la fiebre y la leucocitosis y en la mejoría de los sistemas cardiovascular, pulmonar, y renal materializándose en un incremento del flujo sanguíneo y consumo de oxígeno en los miembros; un descenso en la fracción shunt pulmonar y en el espacio muerto de ventilación; y en el aumento del aclaramiento de creatinina.

Posteriormente Lundsgaard-Hansen, Hesselvik, Grossman⁽³⁴⁻³⁶⁾, etc. llevaron a cabo nuevos experimentos tanto con crioprecipitado como con Fn pura, logrando resultados diversos, probablemente debido a que los grupos de pacientes no eran. También se ha investigado mucho en animales con resultados dispares⁽³⁷⁻⁴³⁾.

1.14.2.2. Micromoléculas

Otro frente de actuación ha sido la inhibición de la transcripción, síntesis, glucosilación y secreción de citocinas.

La elevación de AMPc inhibe intensamente la producción de TNF- α . Se ha intentado elevar el AMPc mediante análogos exógenos no hidrolizables, activadores de la adenilciclase o inhibidores de la hidrólisis de AMPc. Estos últimos, inhiben selectivamente la isoenzima fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos. El fármaco más estudiado en este grupo es la Pentoxifilina, aunque otros están en la fase preclínica.

Diversas moléculas inhibidoras de las proteínas tirosinacinas (Herbimicina, Genisteína) bloquean la activación de macrófagos *in vitro* inducida por las endotoxinas⁽⁴⁴⁾.

Los imidazoles bicíclicos (Dihidroimidaziltiazolina) inhiben la producción de citocinas impidiendo la transcripción del mRNA ribosómico.

Por último los inhibidores de las convertasas, enzimas responsables de procesar e hidrolizar los precursores de las citocinas hasta su forma madura biológicamente activa, pueden ser otra posible diana terapéutica. Han sido descritos diversos inhibidores de la IL-1 convertasa y de la TNF convertasa con efectos *in vitro*.

2. CRITERIOS DE VALORACION CLINICA

2.1. CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LOS DISTINTOS ESTADIOS DE GRAVEDAD EN LA SEPSIS

Siguiendo las recomendaciones de la ACCP/SCCM⁽¹¹⁾ definimos los siguientes estados de gravedad:

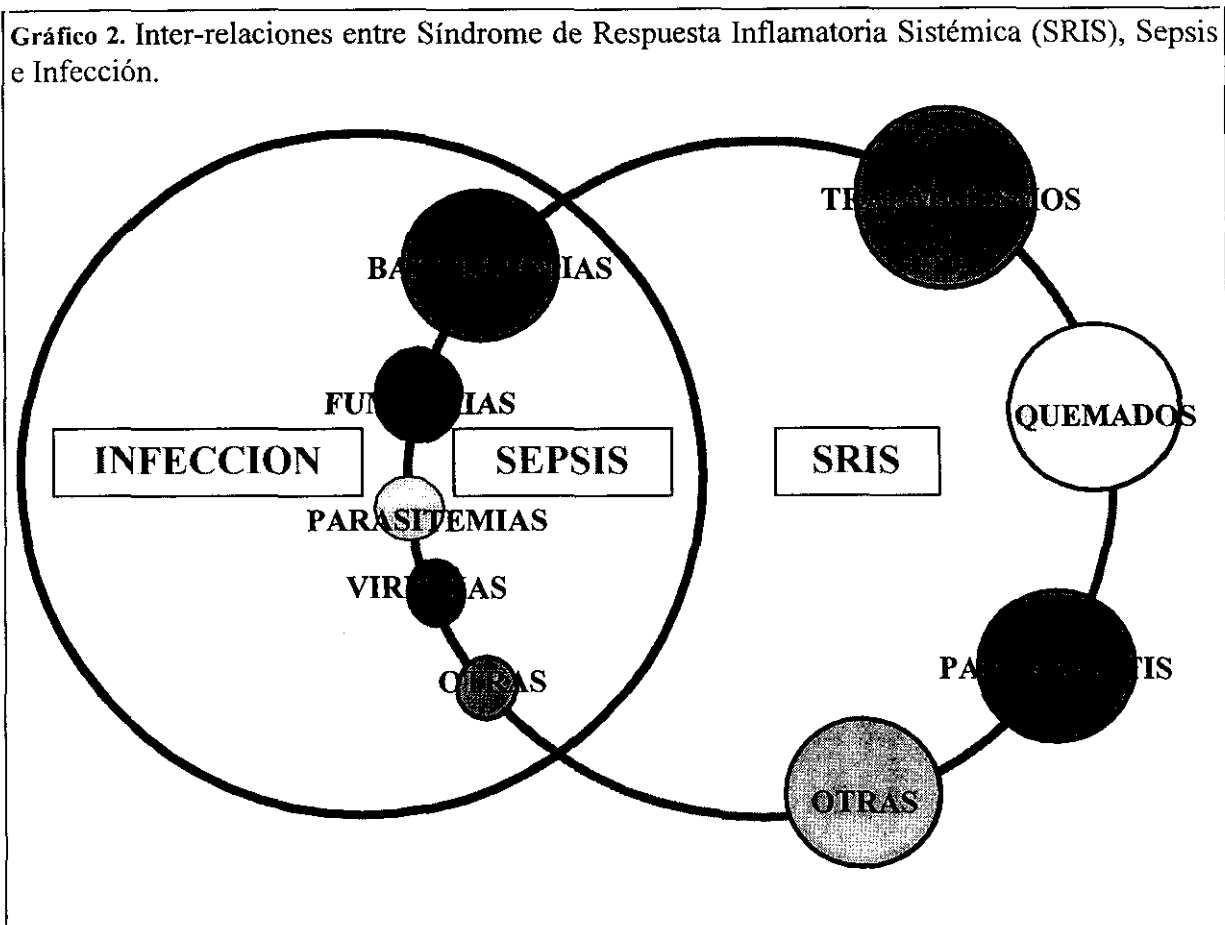
- * Sepsis Leve
- * Sepsis Severa
- * Shock Séptico
- * Fallo Multiorgánico

2.1.1. SEPSIS LEVE

Se diagnostica sepsis leve cuando el SRIS es el resultado de un proceso infeccioso confirmado.

Como se observa en el diagrama del Gráfico 2, el SRIS puede ser la consecuencia de una infección (es decir, sepsis) o de un agente no infeccioso (pancreatitis...etc.). Por tanto, la sepsis representa sólomente una parte de los pacientes que desarrollan SRIS, los de etiología infecciosa.

Gráfico 2. Inter-relaciones entre Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), Sepsis e Infección.



En estudios recientes se ha demostrado que tan sólo el 45-48% de los estados sépticos cursan con hemocultivos positivos^(45,46), y aproximadamente el 15% no presentan infección documentada a pesar de tener una alta sospecha clínica de estar infectados⁽⁴⁶⁾; es decir, si consideramos *conditio sine qua non* el aislamiento microbiológico, uno de cada siete pacientes

sépticos no será diagnosticado adecuadamente. Además, debido a la necesidad de instaurar rápidamente el tratamiento, se tiende a administrar antibióticos aún cuando la posibilidad de infección sea muy remota.

2.1.2. SEPSIS SEVERA

Una complicación frecuente del SRIS es la instauración del fracaso de un órgano (FUO) (Véase Anexo 1) como puede ser el Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto (SDRA), fallo renal agudo, etc^(11,47).

Se define pues la Sepsis Severa como la sepsis asociada al fracaso de un órgano, o a signos de hipoperfusión en forma de acidosis láctica, oliguria o alteración mental aguda o a evidencia de hipotensión.

El término Sepsis Severa ha venido a reemplazar al denominado “*Síndrome séptico*” que ha sido utilizado con frecuencia de manera impropia para definir estados inflamatorios que cursaban con sintomatología similar a una sepsis, pero cuyo origen no era infeccioso.

2.1.3. SHOCK SEPTICO

Se define Shock Séptico como la Sepsis Severa que cursa además con hipotensión persistente a pesar de restaurar fluidos, acompañada de signos de hipoperfusión o disfunción de algún órgano. En ciertos casos el tratamiento con inotropos y vasopresores puede enmascarar la hipotensión, lo que dificulta el diagnóstico.

2.1.4. FALLO MULTI ORGANICO (FMO)

En el extremo, el proceso séptico tiene un impacto en el funcionamiento de múltiples órganos, haciendo que la homeostasia no se pueda mantener sin intervención terapéutica.

En algunos trabajos⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾ se ha demostrado que se puede desarrollar FMO en ausencia de infección y además que este estado se puede reproducir experimentalmente mediante la infusión de ciertos mediadores de la inflamación⁽⁵¹⁻⁵⁴⁾.

Se diagnostica FMO cuando se produce el fracaso de dos o más órganos (Véase Anexo 1).

El resultado final (pronóstico) en el FMO se determina por el número de sistemas que fracasan y por el tiempo de duración de dichos fallos^(55,56).

En un estudio realizado por Knaus *et al*⁽⁵⁶⁾, se constató que la proporción de muerte fue del 22% en los pacientes con FMO de menos de un día de duración, pero después de 7 días había fallecido el 41% de los enfermos. La proporción de fallecimientos cuando se produjo el fracaso en tres o más órganos durante menos de 24 horas fue del 80%, aumentando al 100% transcurridos 4 días.

2.2. CRITERIOS DE VALORACION DE LA EVOLUCION CLINICA

La sensibilidad diagnóstica de los criterios de la ACCP/SCCM es altísima, y esto conlleva el que se incluyan pacientes con gravedad media junto a otros casos que revisten mayor importancia.

La ACCP/SCCM, con motivo de hacer las definiciones más específicas y para facilitar al clínico la toma de decisión en cuanto al tratamiento a instaurar, recomienda el uso concomitante de Sistemas de Puntuación o Sistemas de Score (*Scoring Systems*)⁽⁴⁷⁾, que además de ayudarnos en el diagnóstico rápido y correcto, nos permitan predecir, en lo posible, el riesgo de mortalidad, a la vez que observar la evolución clínica diaria del enfermo y la eficacia del tratamiento antibiótico que se está utilizando por si fuera necesario modificarlo.

La estimación de los riesgos puede ser útil en la monitorización del uso de nuevos tratamientos que aparentemente son eficaces, ya que ayuda a la identificación y estratificación de los pacientes en niveles de riesgo. El uso de estas aproximaciones tiene particular importancia cuando el paciente es candidato o participante en un ensayo clínico⁽¹¹⁾. El conocimiento exacto de los riesgos previos al tratamiento puede mejorar la precisión en la evaluación de los fármacos en fase de experimentación.

A lo largo de los últimos años se han ideado numerosos índices pronósticos basados en un sistema de puntuación o tanteo conocidos como *Scores*, como ocurre en el estadiaje de los tumores sólidos donde la presencia de adenopatías o metástasis se utiliza para planificar la

quimioterapia y la radioterapia adecuada⁽⁵⁷⁾. De la misma manera, existen escalas como la de Karnofsky⁽⁵⁸⁾ que se usa para establecer la estrategia terapéutica y evaluar los efectos de la quimioterapia en el nivel de actividad y calidad de vida del paciente.

En cardiología, la *New York Heart Association Functional Classification* se usa normalmente para seguir los progresos del paciente y para conocer el impacto de las maniobras terapéuticas realizadas⁽⁵⁹⁾.

2.2.1. DISEÑO DE SCORES

Las tres fases en las que se divide el diseño de un nuevo método de score son:

1. Análisis para identificar y categorizar los factores de riesgo.
2. Obtención de las ecuaciones que, empleando todas las variables, nos den el valor individual en cada paciente.
3. Validación o evaluación del score propuesto.

2.2.1.1. ANALISIS PARA IDENTIFICAR Y CATEGORIZAR LOS FACTORES DE RIESGO

Existen diferentes metodologías estadísticas para identificar los factores de riesgo, pero en todos los casos la consistencia de sus hallazgos suponen la validación de las conclusiones que adjudican el valor predictivo de cada parámetro.

Durante la pasada década, se han realizado numerosos estudios en pacientes con infecciones graves (normalmente bacteriemias) para identificar los factores asociados a la mortalidad.

En multitud de trabajos, mediante análisis estadísticos univariados o multivariados, aplicando diferentes métodos de regresión logística se han ido identificando las variables independientes que están relacionadas con el estado de gravedad de los pacientes y con el desenlace final.

Las variables asociadas a un peor pronóstico en enfermos críticos en general y en sépticos en particular, se han ido identificando paulatinamente en diversos trabajos realizados

por distintos autores. En muchos casos las variables que parecían estar asociadas estadísticamente en unos estudios no lo estaban en otros, probablemente debido a los diferentes modelos de investigación empleados.

Los factores que han demostrado con mayor frecuencia su importancia a la hora de reflejar el estado de gravedad de un paciente han sido: *presencia de shock*⁽⁶⁰⁻⁶²⁾ *enfermedad de base*^(60,62,63), *respiración disminuída*⁽⁶⁰⁾, *fuerza de infección*^(60,61,64,65), *edad*^(60,62,63,66), *Servicio de hospitalización*^(60,61), *tipo de microorganismo infectante*⁽⁶⁰⁾, *presencia de metástasis sépticas*⁽⁶⁰⁾, *terapia antimicrobiana inapropiada*^(60,61,65), *terapias antibióticas con un único fármaco o tratamiento combinado*⁽⁶⁴⁾, *recuento de células blancas*^(64,66-68), *diuresis*⁽⁶³⁾, *pH arterial*^(63,66), *lugar de adquisición de la infección* (nosocomial o en la comunidad)⁽⁶¹⁾, *fallo multiorgánico*⁽⁶¹⁾, *presencia de endotoxemia*⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾, *niveles de citocinas como TNF- α , IL-1, IL-6 etc.*^(63,69,71-83) y *reactantes de fase aguda como factor B, C₃ y C_{3a} del Complemento, α -1 glicoproteína ácida, α -1 antitripsina, etc.*⁽¹⁰⁾.

2.2.1.2. OBTENCION DE LA ECUACION MATEMATICA

Una vez identificadas las variables a tener en cuenta en la valoración del estado del paciente, el siguiente paso es conocer el peso específico de cada variable y la cuantía en la que repercute sobre el valor global del score.

Para ello, normalmente se emplean métodos estadísticos basados en ecuaciones de regresión logística múltiple, que asignan un factor a cada variable y nos proporcionan la ecuación que más se aproxima a la estimación numérica de la gravedad individual de cada enfermo.

2.2.1.3. VALIDACION DE LOS SCORES

La validación de los scores es la última fase a la hora de proponer un nuevo score. El proceso consiste en corroborar la eficacia del sistema de puntuación en una población de pacientes observando que la predicción es consistente con el desenlace final de la enfermedad (alta o fallecimiento).

2.2.2. EVOLUCION DE LOS SCORES

Se han diseñado numerosos sistema de score para casos de sepsis en los últimos 15 años; siendo algunos modificaciones de los previos. La mayoría de estos sistema se han sometido a validación y unos cuantos han sido reevaluados por otros autores obteniendo resultados variables.

Los scores más empleados como son el *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE III)⁽⁸⁴⁾ (ver Anexo 2) o el *Mortality Prediction Method* (MPM)⁽⁸⁵⁾ fueron diseñados en su origen para calcular el riesgo de mortalidad en las UCIs y para estratificar los pacientes en función de la gravedad en los ensayos clínicos.

Ninguno de los scores intentaba al principio aplicar el riesgo de mortalidad obtenido a la hora de tomar una decisión clínica, sino que su propósito era estratificar los grupos de pacientes para poder evaluar objetivamente la eficacia de diferentes pautas terapéuticas. Sin embargo, conforme se fueron sofisticando los sistemas de detección de las variables independientes a tener en cuenta, se hizo posible crear sistemas de score que, acompañando a la información clínica, permitieran ayudarnos a tomar decisiones en cuanto a intervenciones diagnósticas o terapéuticas ante un paciente individual.

Los scores como el APACHE, y el *Simplified Acute Physiology Score* (SAPS II)⁽⁸⁶⁾ (ver Anexo 2) se correlacionan bien con el riesgo de muerte de los pacientes ingresados en las UCIs pero tienen un bajo poder discriminante en pacientes sépticos. Sin embargo, el sistema APACHE II ha sido validado en diferentes estudios con pacientes quirúrgicos⁽⁸⁷⁾. Dado que este score ha demostrado ser fiable, objetivo y compuesto por información independiente de los criterios diagnósticos y del tratamiento, se justifica que el *Joint Working Party of the Surgical Infection Society for North America and Europe* adopte el APACHE II como el sistema de score preferido en las infecciones intra-abdominales⁽⁸⁸⁾.

Los sistemas de score utilizados en pacientes críticos con el fin de predecir el riesgo de mortalidad, han pasado desde correlacionar el índice de mortalidad con el número de órganos que fallan [p.ej. *Multiple System Organ Failure Scoring System* (ver Anexo 2)], hasta sofisticadas técnicas que cuantifican el peso de las variables anatómicas, clínicas y fisiológicas y

mediante ecuaciones de regresión logística calculan el riesgo de mortalidad [p.ej. APACHE III y el SAPS II].

Los scores como *The Multiple System Organ Failure*⁽⁸⁹⁾, el *Septic Severity Score*⁽⁹⁰⁾, el *Multisystem Organ Failure Scoring System*⁽⁹¹⁾, el *Organ Dysfunction and/or Infection*⁽⁹²⁾, el *Acute Organ System Failure*⁽⁹³⁾ y el *Multiple Organ Failure*⁽⁴⁸⁾ se basan únicamente en el diagnóstico de fracaso de órganos o gravedad del fracaso del órgano, sin tener en cuenta importantes variables fisiológicas, así como posibles enfermedades de base que puedan afectar negativamente al estado del paciente, utilizando en muchas ocasiones criterios diferentes para diagnosticar el fracaso de los órganos.

Los métodos derivados y validados en pacientes quirúrgicos como el original *Multiple System Organ Failure*⁽⁹¹⁾, el *Septic Severity Score*⁽⁹⁰⁾, el *Grading of Sepsis*⁽⁹⁴⁾, el *Peritonitis Index Altona*⁽⁹⁵⁾, el *Surgical Infection Stratification*⁽⁶²⁾, el *Multiple Organ Failure*⁽⁴⁸⁾, el *Organ Dysfunction and/or Infection*⁽⁹²⁾ y el *Outcome Predictive Score*⁽⁹⁶⁾ no pueden ser aplicados a pacientes no quirúrgicos con sepsis puesto que el proceso quirúrgico en sí mismo, la respuesta inflamatoria consiguiente al trauma quirúrgico, y la necesidad de realizar procedimientos adicionales para erradicar el foco de infección, contribuyen al estado clínico general y al posterior desenlace final⁽⁹⁷⁾.

En otros sistemas desarrollados en pacientes quirúrgicos se utilizan evaluaciones subjetivas sobre infecciones locales de tejidos y/o fracaso de órganos p.ej., el *Organ Dysfunction and Infection*, y el *Grading of Sepsis*^(92,94).

Determinados métodos consideran el tipo de infección y el organismo causante p.ej., *Septic Shock Score* (SSS)⁽⁹⁸⁾.

Algunos de los scores, tanto en validaciones externas como en investigaciones internas, han intentado minimizar la subjetividad (p.ej., *Grading of Sepsis*) o tienen en cuenta el curso clínico de los pacientes en el tiempo para aumentar la exactitud en los cálculos (p.ej., *Mortality Prediction Method*)⁽⁹⁹⁾.

Aunque se puede suponer que los pacientes con múltiples factores de riesgo tendrán una mayor probabilidad de muerte que los pacientes con ninguno o sólo un factor de riesgo, ninguno de todos estos estudios consiguió desarrollar un modelo o algoritmo perfecto para cuantificar el riesgo de mortalidad debido a bacteriemia.

En definitiva, será importante conseguir un sistema de score que evalúe la combinación de factores de riesgo como anormalidades fisiológicas, variables clínicas y niveles de citocinas u otras proteínas del tipo de reactantes de fase aguda que nos ayuden a predecir el riesgo de muerte en un proceso séptico o a monitorizar la evolución clínica de la enfermedad⁽¹⁰⁰⁾.

3. FIBRONECTINA

3.1. DESCRIPCION

La Fn es una proteína documentada por primera vez en 1948 por Morrison⁽¹⁰¹⁾ que consiguió purificar parcialmente una fracción del plasma y la denominó "*globulina insoluble en frío*".

En 1970, Mosesson y Umfleet⁽¹⁰²⁾ purificaron totalmente la globulina insoluble en frío y definieron su composición aminoacídica, calcularon que su peso molecular era de 450.000 daltons aproximadamente y describieron su estructura que consistía en dos cadenas protéicas unidas mediante puentes disulfuro.

Por otro lado, en 1965 el grupo de Saba documentó la presencia de una α_2 globulina la cual se unía a partículas recubiertas de gelatina y que favorecían la fagocitosis por parte de los macrófagos⁽¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾.

En 1976, Blumenstock *et al*^(106,107) lograron purificar este factor opsonico estimulante de macrófagos y le describieron bioquímicamente como una α_2 globulina de 450.000 daltons aproximadamente de peso molecular a 37°C.

En 1973, Ruoslahti *et al* describieron por primera vez la *fibronectina de la superficie celular* en fibroblastos de pollo⁽¹⁰⁸⁾.

En 1975, se demostró que la *globulina insoluble en frío* estaba antigénicamente relacionada con varias proteínas ya estudiadas: la glicoproteína de la superficie de los fibroblastos, el llamado "*large external transformation sensitive protein*" (LETS) y la fibronectina de la superficie celular. En 1976 fue comprobado el comportamiento de la globulina insoluble en frío como α_2 -glicoproteína opsonica del plasma^(106,109).

Otros grupos de investigación la denominaron *factor antigelatina*, *galactoproteína* o *factor de acercamiento celular*⁽¹¹⁰⁻¹¹³⁾, pero analizando estos estudios de manera retrospectiva se hizo evidente que estaban trabajando con la misma molécula.

Etimológicamente, la palabra deriva de “*nectere*” por sus propiedades para unir o adherirse a distintas superficies como la fibrina (de ahí la raíz latina *fibro*).

La forma *soluble* se encuentra disuelta en el plasma y en la mayoría de fluidos del cuerpo mientras que la forma *insoluble* la localizamos sobre la superficie celular, en las membranas basales, en el medio de cultivo de células y dispuesta en forma de fibrillas en la matriz extracelular del tejido conectivo, del tejido de granulación o tejido cicatricial, etc.

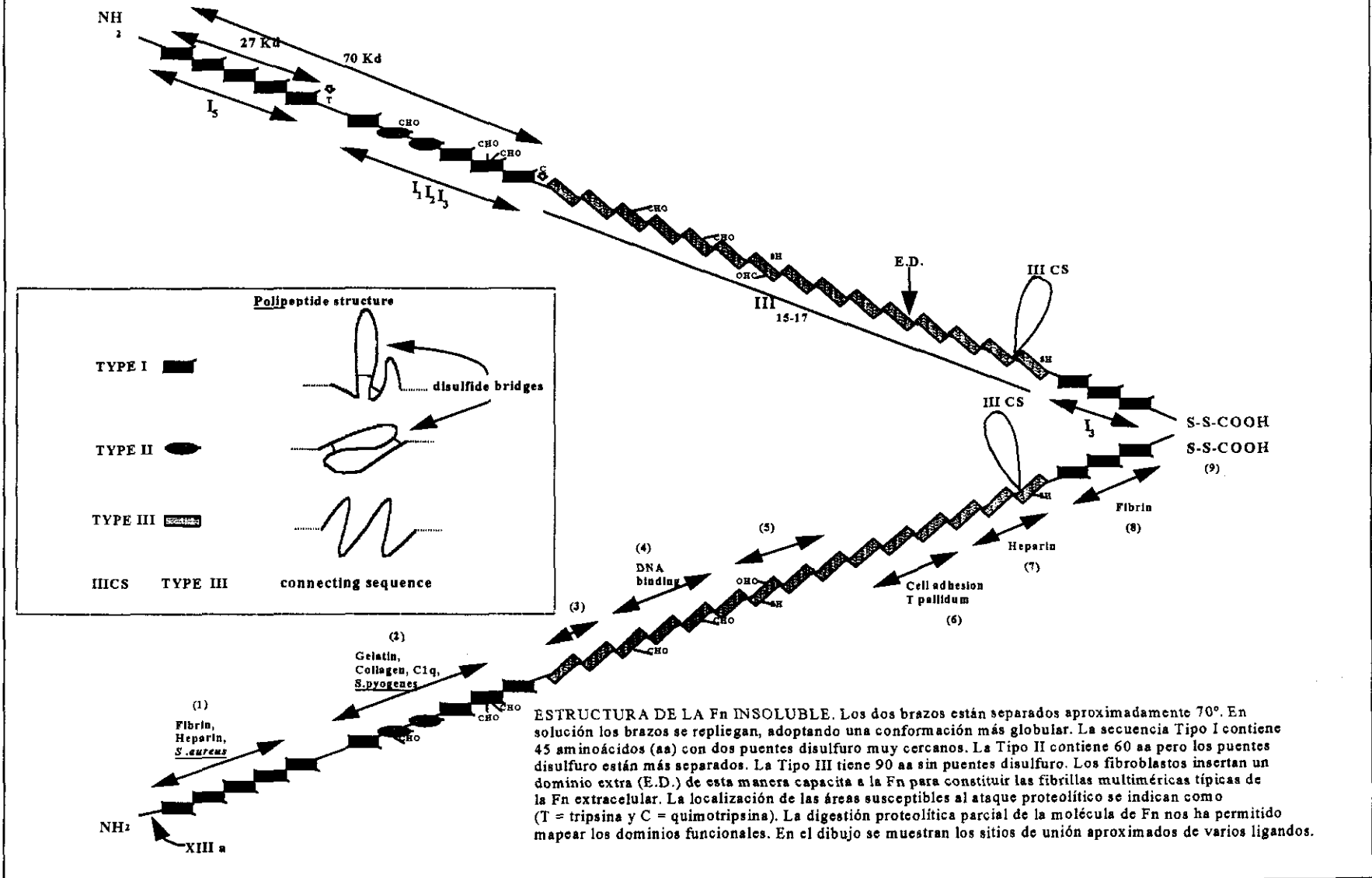
La Fn soluble y la insoluble o celular son similares pero no idénticas; se han detectado diferencias estructurales, funcionales e inmunológicas.

Aunque en general se habla de una proteína, en realidad se trata de una familia de proteínas. Mediante experimentos con DNA recombinante se han identificado dos regiones en la molécula de Fn que varían en función del procesamiento sufrido por el mRNA primario en la fase post-transcripcional: son las regiones hipervariables que dan lugar a distintos subtipos de fibronectinas con diferentes secuencias aminoacídicas.

Uno de los subtipos de Fn identificado en células tumorales humanas y en fibroblastos, posee una secuencia homóloga tipo III adicional llamada “*extra domain*” (ED) que es insertada en cada uno de los brazos de la Fn en las propias células que permitirá que posteriormente se formen polímeros fibrilares. La presencia de esta secuencia es exclusiva de las fibronectinas celulares, desconociéndose su significación funcional, pero el hecho de que sólo aparezca en la Fn celular sugiere un papel en la organización de los tejidos, favoreciendo quizá la formación de las fibrillas de Fn encontradas en la matriz extracelular.

La Fn es una glucoproteína dimérica de gran tamaño constituida por dos subunidades similares de 225.000 kdal cada una. Contiene aproximadamente 2.300 aminoácidos y un 5% de la molécula son carbohidratos. El análisis de aminoácidos, mRNA, y secuencias de DNA genómico han demostrado que la proteína se compone de bloques de secuencias homólogas repetitivas de tres tipos (I, II y III). Estos tres tipos de secuencias conforman más del 90% del total de la molécula de Fn. Las secuencias homólogas tipo I y II contienen 45 y 60 aminoácidos

Gráfico 3. Estructura de la Fibronectina celular.



respectivamente y se hayan estabilizadas por dos puentes disulfuro. La tipo III tiene 90 aminoácidos sin puentes disulfuro, pero algunas tienen grupos sulfhidrilos libres. La función de estos grupos no se conoce, aunque bajo ciertas condiciones, mediante su oxidación se pueden formar multímeros de elevado peso molecular.

Las secuencias se ordenan en línea recta para dar lugar a las dos subunidades casi idénticas que conforman los dos brazos de la molécula de Fn. Cada brazo del dímero de Fn se puede dividir en varios *dominios funcionales*⁽¹¹⁴⁾ los cuales se refieren a cada una de las sustancias a las que se unen en esta región específica, por ejemplo el dominio número 1 y el 8 se llaman dominios de unión a fibrina, el 2 es el dominio de unión a colágeno/gelatina, y el dominio 6 es la región de adhesión a células, las funciones de los dominios 3 y 5 son desconocidas. El complemento probablemente se une al dominio 2. El dominio 9 es el extremo carboxi-terminal.

Al observar la Fn sobre la superficie de las células con microscopio electrónico, ésta aparece en forma abierta; sin embargo, en solución fisiológica el extremo amino-terminal de cada brazo puede enrollarse hacia el resto carboxilo final del dominio 2 (de unión al colágeno) dándole una conformación más globular.

3.2. DISTRIBUCION

La Fn es una proteína muy ubicua. La forma soluble la encontramos en los fluidos del organismo, especialmente en el plasma, LCR, líquido sinovial, líquido amniótico, fluido seminal, saliva y en exudados inflamatorios; y la insoluble en la superficie de las células y en la matriz extracelular⁽¹¹⁵⁾.

La forma más prevalente es la soluble plasmática, la cual es sintetizada probablemente por el Sistema Reticulo Endotelial (SRE) con una especial capacidad por las células de Kupffer del hígado, que en realidad son células reticuloendoteliales, así como “células endoteliales” vasculares especializadas⁽¹¹⁶⁾. La insoluble, en su mayor parte es sintetizada por las propias células.

Aunque *in vitro* la mayoría de las células pueden sintetizar Fn, *in vivo* no se conoce exactamente cual es la fuente de Fn tisular. Se ha demostrado, sin embargo, que el plasma suministra al menos parte de la Fn hallada en los tejidos^(117,118). Esto nos indica que puede

existir un equilibrio dinámico entre la Fn plasmática y la celular⁽¹¹⁶⁾. Por otro lado, *in vitro*, diferentes tipos de cultivos celulares han demostrado que pueden sintetizar Fn y secretarla a la matriz extracelular⁽¹¹⁹⁾.

La forma celular de la Fn constituye aproximadamente el 1-3% del total de la proteína celular en los cultivos de fibroblastos.

La composición y organización de la matriz extracelular varía de unos tipos de células a otras conteniendo entre otras glucoproteínas las siguientes: colágeno, trombospondina, laminina, etc.

La Fn celular puede establecer enlaces cruzados con ella misma mediante puentes disulfuro o a través del factor XIII⁽¹²⁰⁻¹²²⁾, ambos procesos tienen como resultado la formación de fibrillas de aproximadamente 5-10 nm de diámetro⁽¹²³⁾, insolubles en detergentes de baja fuerza iónica⁽¹²⁴⁾ y estabilizadas por puentes disulfuro⁽¹²⁵⁻¹²⁷⁾. La Fn de estas fibrillas proviene en parte de la sintetizada por las propias células y de la aportada por el plasma utilizado en el cultivo⁽¹²⁸⁾. Cuando estos cultivos se analizan mediante microscopía innumofluorescente, se observa la malla de fibrillas de Fn depositadas entre las células de los tejidos.

La incorporación de la Fn soluble a los tejidos requiere la intervención de dos tipos de receptores protéicos dispuestos en la superficie celular. Un primer tipo de receptor es un complejo protéico de 140 kdal de la familia de las integrinas que reconoce el dominio funcional —dominio 6— responsable de la adhesión de la Fn a la superficie celular. El segundo receptor celular es el llamado “*Matrix Assembly Receptor*” (MAR) que es el encargado de favorecer las interacciones con otras moléculas de Fn soluble y estabilizar los enlaces Fn-Fn que constituyen las fibrillas multiméricas de Fn que se encuentran en la matriz extracelular de los tejidos⁽¹²⁸⁾. El MAR se adhiere al fragmento de 70 kdal del extremo amino-terminal de la molécula de Fn en dos etapas: en una primera fase se une al resto final de 27 kdal y en la segunda interviene el fragmento contiguo de 40 kdal —juntos forman el resto de 70 kdal del extremo amino-terminal de la molécula de Fn—.

Durante estos últimos años se ha llegado al conocimiento de la íntima relación existente entre proteínas de la matriz extracelular, tales como la Fn, y el citoesqueleto; se ha visto cómo las fibrillas de Fn extracelular se alineaban con los haces de filamentos de actina intracelulares y cómo el tratamiento de las células con citocalasina, que rompe los filamentos de actina, conducía

a la pérdida de la Fn adyacente a la superficie celular⁽¹²⁹⁾. También se sabe que la adición de Fn a las células tumorales malignas en cultivo, cuyo citoesqueleto ha perdido su organización normal, produce la reordenación de la red de filamentos de actina intracelulares⁽¹³⁰⁾.

Todo esto llevó a la conclusión de que tenía que existir un contacto físico entre el citoesqueleto y la matriz extracelular, y que este contacto podría estar mediado por un receptor o receptores integrados en la membrana celular que conectaran ambos medios, la célula y la matriz que la rodea.

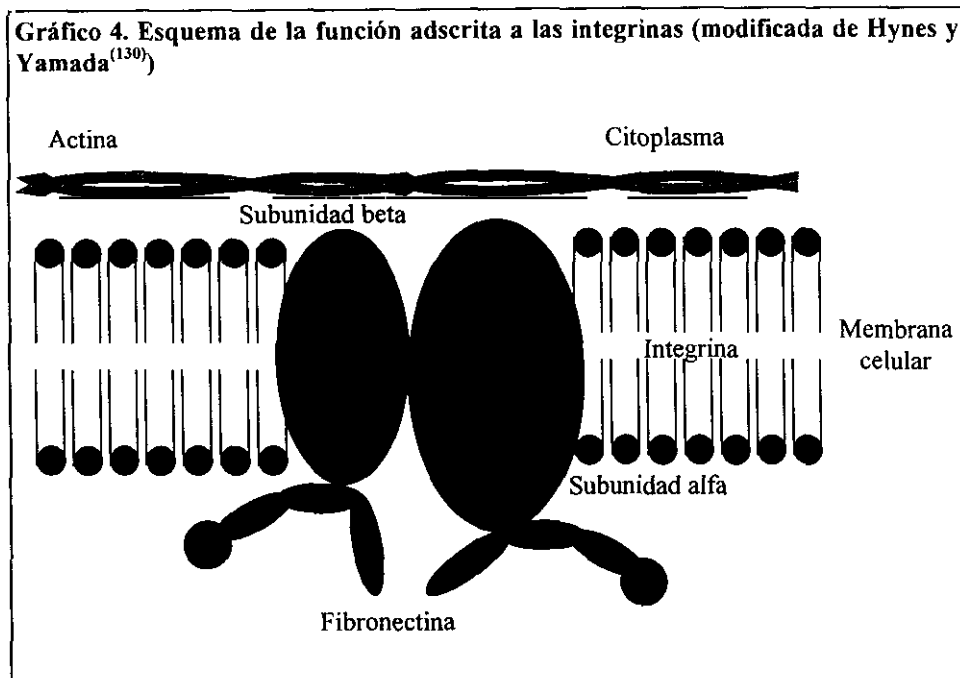
Para abordar el estudio de estos receptores se diseñaron anticuerpos monoclonales (AcM) con capacidad para inhibir la adhesión de las células a la matriz o a otras células. Otro método consistió en el empleo de técnicas de cromatografía de afinidad que utilizaban como ligando el componente extracelular cuyo receptor se quería estudiar.

Al utilizar AcM que inhibían la adhesión a la Fn de fibroblastos de pollo en cultivo, se identificó un complejo de 140 kdal que consta de tres glucoproteínas unidas no covalentemente⁽¹²⁹⁾. En estudios de inmunofluorescencia, se observó que este complejo alinea tanto las fibras de Fn como las del citoesqueleto. Además, por estudios de microscopía inmunoelectrónica, se ha comprobado que estas proteínas están en los puntos de unión de la célula con otras células o con la matriz circundante⁽¹³¹⁾.

En 1986, Tamkun *et al*⁽¹²⁹⁾ estudiaron la estructura de una de las subunidades del complejo 140 kdal y encontraron que consta de un gran dominio amino-terminal extracelular, un segmento dentro de la membrana y un pequeño dominio carboxi-terminal citoplasmático. Estos autores observaron, asimismo, que el segmento extracelular contiene tres fragmentos repetidos ricos en cisteína y que el intracelular tiene un residuo de tirosina susceptible de ser fosforilado, lo cual puede estar en relación funcional con las proteínas codificadas por algunos de los protooncogenes que tienen actividad de tirosina quinasa. La secuencia de aminoácidos no se parecía a ninguna de las proteínas conocidas hasta ese momento. A dichos autores se debe la designación de este complejo 140 kdal como *integrina*⁽¹³²⁾.

Todos y cada uno de los receptores de adhesión celular estudiados hasta el momento en mamíferos son glucoproteínas y en el hombre constan de dos subunidades unidas no covalentemente: la alfa y la beta. La función de estos receptores se basa en su participación en las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular. Muchas de ellas reconocen en su ligando

extracelular la secuencia RGD (arginina-glicina-asparagina) que está presente en muchas de las proteínas de la matriz tales como la Fn, el colágeno y la vitronectina, entre otras, aunque pueden tener lugar interacciones de otro tipo. El ligando intracelular sería una proteína del citoesqueleto: vinculina, talina, α -actinina y tropomiosina. En otras ocasiones, el ligando extracelular es otra célula y queda por determinar la naturaleza del ligando reconocido por las integrinas⁽¹³³⁾.



Dentro de la superfamilia de las integrinas pueden reconocerse tres subfamilias en virtud de que en cada una de ellas la subunidad beta es idéntica en todos los miembros del subgrupo. El receptor de la Fn contiene una subunidad beta 1, designada como CD29, que es la que aparece en todos los miembros de la subfamilia de integrinas denominada VLA (*very late activation antigen*)⁽¹³³⁾.

Poco se conoce acerca de la regulación de la expresión de estas moléculas de adhesión así como del papel de ciertos mediadores solubles en la misma. Se ha estudiado la acción de la interleucina-1 beta en células pertenecientes a dos osteosarcomas humanos y se ha observado un aumento de la expresión de la subunidad beta 1 y sus correspondientes subunidades alfa. Este incremento de expresión de beta 1 se asoció con una mayor adhesión de las células a la Fn y una disminución de la proliferación celular⁽¹³⁴⁾.

Tabla 1. Superfamilia de las integrinas: familias en humanos⁽¹³²⁾.

Subunidad beta	Subfamilia
Beta 1	VLA-1,2,3,4,5,6...? Receptor de fibronectina Integrina de pollo
Beta 2	LFA-1 MAC-1/MO-1 GP 150/95
Beta 3	Receptor de vitronectina Complejo IIb/IIIa de las plaquetas
Beta 4	Adhesión en células endoteliales
Beta 5	Receptor de vitronectina
Beta X	Receptor de ligandos RGD en polimorfonucleares

Otro aspecto prácticamente desconocido en estas moléculas de adhesión, es la etapa cronológicamente siguiente a la unión de la integrina con su ligando extracelular: si se producen señales al interior de la célula, cómo son éstas y en qué medida condicionan el tipo de interacción con las proteínas del citoesqueleto. Hasta el momento, sólo se sabe que los ésteres de forbol aumentan la adhesión de algunas líneas celulares a la Fn, lo cual sugiere la intervención de la proteinquinasa C en los pasos inmediatamente posteriores a la unión de la integrina con su ligando, probablemente fosforilando las proteínas del citoesqueleto que están involucradas en la adhesión mediada por las integrinas⁽¹³⁵⁾.

En un trabajo publicado recientemente⁽¹³⁶⁾ se observa, al estudiar la expresión de los receptores para Fn y vitronectina, que ésta varía dependiendo del medio en que se cultiven las células, aunque parece que se expresa prioritariamente el segundo. Sin embargo, ambos establecen interacciones con la vinculina y la talina intracelulares, lo cual sugiere que distintas integrinas interaccionan con las mismas proteínas del citoesqueleto.

3.3. FISIOPATOLOGIA

3.3.1. FUNCIONES DE LA FN

Las funciones principales de la Fn están relacionadas con la defensa del huesped frente a la infección, sirviendo como mediador en la fagocitosis de bacterias por parte de los macrófagos y neutrófilos^(137,138).

La Fn interacciona con los fagocitos en casi todas las etapas de la respuesta inflamatoria⁽¹³⁹⁾, ejerciendo un efecto atrayente principalmente frente a los neutrófilos. Posteriormente la acción de las proteasas neutrofilicas da lugar a la producción de fragmentos de Fn que son quimioatrayentes para los monocitos. También actúa como un potente quimiotáctico para monocitos y neutrófilos en presencia de ácido hialurónico. Asimismo, la Fn favorece la interacción entre las células fagocíticas y las bacterias que han sido opsonizadas por anticuerpos, lo cual aumenta la actividad bactericida de aquellos.

También colabora con el SRE en la eliminación de restos de colágeno, plaquetas dañadas y tejidos necróticos⁽¹⁴⁰⁾.

La Fn, a su vez, ejerce un papel importante en la coagulación sanguínea en tres momentos diferentes: en primer lugar, en la fase de agregación plaquetaria, actuando como puente de unión entre la plaqueta y el colágeno; en segundo lugar, favorece la estabilización del coágulo de fibrina, gracias a la mediación del factor XIII, colaborando en la formación de la matriz proteica que sustituirá al trombo, ayudando al crecimiento y migración de las células dentro de dicha matriz; y por último, potenciando la acción de los activadores del plasminógeno⁽¹⁴¹⁾.

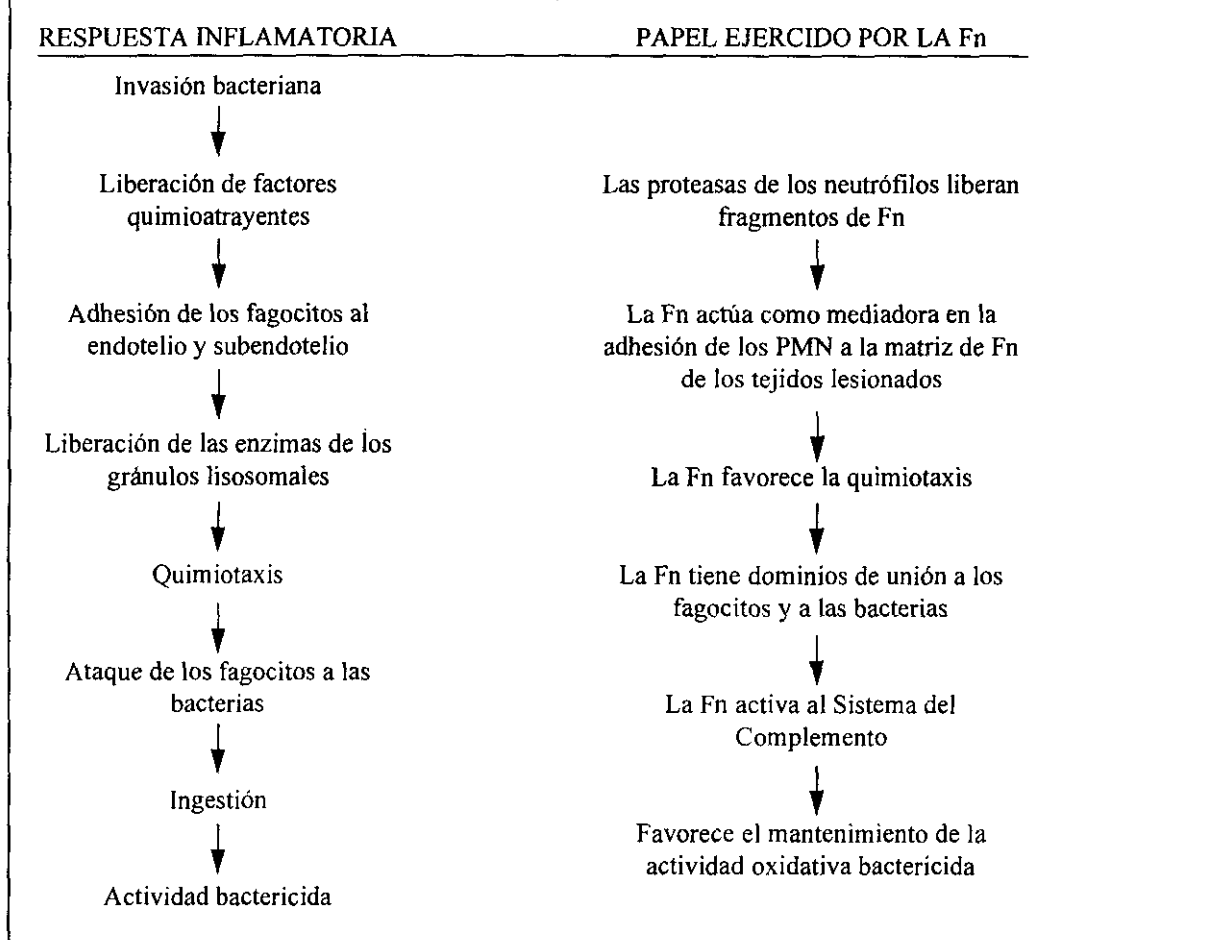
La Fn celular tiene la capacidad de actuar como una *lectina*, aglutinando eritrocitos de carnero, lo que sugiere que puede jugar un papel importante en las interacciones célula-célula⁽¹⁴²⁾.

Otra función importante es la de colaboración en el mantenimiento de la integridad vascular y en la curación de heridas debido a las interacciones que se producen entre la Fn de la superficie de los fibroblastos, las mallas de fibrina, el colágeno de la matriz extracelular y el factor XIII⁽¹¹⁶⁾.

Se ha propuesto que el contenido en Fn celular está relacionado inversamente con la tumorigenicidad de las células y que la carencia de esta proteína puede ser un factor de malignidad⁽¹¹²⁾. Sin embargo, esta relación ha sido cuestionada por otros autores⁽¹⁴³⁾. Por otra parte, se ha visto que en algunos casos de neoplasias se producen trastornos en la Fn plasmática y que la administración de Fn *in situ* limita el crecimiento de tumores locales⁽¹⁴⁴⁻¹⁴⁶⁾.

La Fn tiene fundamentalmente una localización subendotelial; sin embargo, también se encuentra ampliamente distribuida en las zonas de unión de las células, de manera que cuando se produce una lesión en los tejidos, la Fn y otras proteínas de la matriz quedan expuestas pudiendo cumplir su papel clave en la adhesión de las bacterias a las paredes vasculares. Los neutrófilos se unen inicialmente a estas áreas expuestas del subendotelio donde está la matriz de Fn celular,

Tabla 2. Papel de la Fn en la respuesta de los fagocitos a la invasión bacteriana.



más tarde los neutrófilos adheridos al lugar de inflamación dan lugar a la superproducción (20 veces superior a la normal) de Fn, la liberan y la depositan sobre las superficies que atraviesan. Los monocitos también se unen a los tejidos mediante un receptor que tiene afinidad por una región de la molécula de Fn.

La Fn celular, además, juega un papel importante en la quimiotaxis de los fagocitos debido al carácter reversible de su unión a ellos y a su relación con elementos del citoesqueleto.

El siguiente paso es la adhesión de los organismos a los fagocitos para ser eliminados y aquí la Fn también tiene un papel crucial mediando la unión de determinados gérmenes gracias a que poseen una serie de regiones con elevada afinidad a receptores situados en los organismos invasores.

Y por último, parece que la Fn puede actuar como moduladora de la acción del sistema del complemento y, en concreto, en la actividad del receptor para el factor C₃ y Fc, favoreciendo su capacidad bactericida⁽¹³⁹⁾.

Se ha constatado en multitud de estudios que la concentración en Fn plasmática disminuye en estados sépticos. Las bases que podrían justificar este descenso están resumidas en la Tabla 3.

El fallo de la terapia con Fn en pacientes sépticos⁽³⁶⁾, en principio, no nos sorprende ya que gran parte de las interacciones positivas de los macrófagos y neutrófilos con la Fn pueden ocurrir con Fn insoluble de los tejidos y no requiere la presencia de Fn soluble. Por otra parte, el hecho de la disparidad de resultados obtenidos en los estudios en cuanto al posible efecto beneficioso de la administración de plasma fresco o crioprecipitado, podría explicarse por las diferencias en el tiempo de conservación del crioprecipitado. Según Blumenstock *et al*⁽¹⁴⁷⁾ la actividad opsonínica de la Fn en el crioprecipitado guarda una relación inversa con el tiempo de conservación. Así, la congelación durante dos meses —a pesar de ser a -80°C— ya disminuye su capacidad opsónica. Los autores que han empleado crioprecipitado de menos de un mes de conservación han obtenido efectos beneficiosos^(30,148).

Tabla 3. Mecanismos que modulan la deficiencia y/o restauración de la Fn circulante en estados sépticos.

BASES PARA LA DISMINUCION

1. Depleción debida a la unión de la Fn a células dañadas, al colágeno expuesto y a la fibrina en el lugar del daño.
2. Utilización por el SRE como opsonina para el aclaramiento de partículas extrañas, de los productos de la coagulación intravascular y restos de colágeno.
3. Degradación de las moléculas circulantes por enzimas proteolíticos secretados durante el estado séptico.
4. Disminución de la síntesis.

BASES PARA LA RESTAURACION

1. Reparación de heridas con la consiguiente disminución en el consumo de Fn.
 2. Descenso en la coagulación intravascular y la agregación plaquetaria debido a la disminución de partículas fagocitables.
 3. Mejora de la perfusión de los tejidos que produce una reducción de la isquemia y descenso en la liberación de enzimas proteolíticos.
 4. Aumento en la síntesis y/o desprendimiento de la Fn celular de los fibroblastos y paso al plasma a través de los vasos linfáticos, una vez modificada a la forma de Fn plasmática.
 5. Aumento en la síntesis y/o desprendimiento de la Fn de las células del endotelio vascular, pasando directamente al plasma habiendola modificado previamente.
 6. Reutilización de Fn previamente unida o consumida.
 7. Aumento en la síntesis y/o desprendimiento de la Fn soluble de ciertas fuentes especializadas como el RES o los macrófagos.
-

3.3.2. INTERACCIONES DE LA Fn CON MICROORGANISMOS PATOGENOS

Se ha puesto de manifiesto que la Fn se une específicamente a multitud de microorganismos grampositivos mediante receptores existentes en las bacterias^(149,150) y que el número de estos receptores se correlaciona directamente con la invasividad clínica relativa de los aislamientos (p.ej., *S.aureus* (3))⁽¹⁴⁹⁾. Según estos estudios, la media de receptores por bacteria en los aislamientos que habían producido infecciones en tejidos profundos fue de 13.000, sin embargo, en los aislamientos de cepas comensales el número de receptores fue de unos 3.500 por bacteria⁽¹⁵¹⁾.

La Fn se adhiere a todas las cepas de *S.pyogenes* proteína M negativos^(139,152-154) , también se une a los estreptococos de los grupos A, C y G y a algunas cepas de estreptococos orales; las cepas más representativas de los grupos B, D, M, N, P y U no parecen unir cantidades importantes de Fn⁽¹⁵⁴⁻¹⁵⁶⁾ . Empleando 15 cepas de *S.mutans* serotipos a-f, Imai *et al*⁽¹⁵⁶⁾ encontraron que todas las cepas se unían a Fn. Las cepas más importantes, en cuanto a aislamientos clínicos se refiere, de *S.sanguis* si se unían a Fn, mientras que *S.mitior*, *S.milleri* y *E.faecalis* parecían tener baja afinidad por la molécula.

La Fn además puede unirse a la envoltura glicoprotéica de los virus⁽¹⁵⁷⁾ ; a *Treponema pallidum* y a parásitos como *Trypanosoma cruzi*⁽¹⁴⁰⁾ y especies de *Leishmania*⁽¹⁴⁰⁾ .

También se ha demostrado la unión de Fn a distintas especies de *Candida*, tanto más cuanto mayor poder de patogenicidad poseen^(158,159) .

En algunos trabajos se ha observado que la Fn puede unirse a microorganismos gramnegativos^(160,161) , aunque en otros estudios se ha visto que, en general, los bacilos gramnegativos tienen menor apetencia por las superficies enriquecidas con Fn⁽¹⁶²⁻¹⁶⁴⁾ .

Este diferente comportamiento puede deberse a que estos experimentos *in vitro* se realizan en condiciones virtualmente diferentes a las encontradas en organismos vivos, tratando las células con concentrados de Fn que provocan desequilibrios en cuanto a la saturación de determinados receptores cruciales en la adhesión de algunas bacterias, trabajando a pH inadecuados..., etc.

Se ha especulado mucho sobre el importante papel modulador que ejerce la Fn a la hora de determinar la ecología de la cavidad orofaríngea^(160,162,164,165) y en la colonización diferencial de tejidos por las bacterias como ocurre en las endocarditis, donde habitualmente los organismos responsables suelen ser aquellos que muestran mayor afinidad por esta proteína⁽¹⁶³⁾ .

Woods comprobó que sometiendo las células a tratamientos proteolíticos con tripsina, que elimina la Fn celular, se favorecía la adhesión de microorganismos gramnegativos como *P.aeruginosa*⁽¹⁶⁶⁾ . Igualmente, constató que existía una correlación absoluta entre el aumento en la adhesión de *P.aeruginosa* a la superficie celular, el descenso de la concentración de Fn sobre la superficie de las células extraídas de la cavidad bucal y el incremento en la concentración de proteasas en las secreciones de pacientes colonizados con este microorganismo^(108,165) .

Se ha demostrado que concentraciones subinhibitorias de antibióticos alteran las propiedades de la superficie de algunas bacterias^(167,168). Esto se ha interpretado por distintos investigadores como una posible interferencia en la adherencia de algunas bacterias con poder patogénico a tejidos de huéspedes susceptibles de ser infectados, incluyendo la adhesión de cepas de *E. coli* a células epiteliales del tracto urinario y digestivo.

3.4. CONCENTRACION PLASMATICA DE Fn

3.4.1. NIVELES DE Fn EN SUJETOS SANOS

Según un estudio realizado en 1981⁽¹⁶⁹⁾ por Stathakis *et al* en sujetos sanos, la concentración plasmática de Fn guarda relación con la edad y el sexo. Observaron que en las mujeres los valores plasmáticos van elevándose con la edad y son inferiores a los de los varones hasta la edad postmenopáusica en la que no existe diferencia en función del sexo. En los hombres, la máxima concentración plasmática de Fn se alcanza entre la tercera y cuarta década de la vida y se mantiene en niveles similares después de esta edad. (ver Tabla 4)

Tabla 4. Concentración de Fn en función de la edad y el sexo⁽¹⁶⁹⁾.

	GRUPOS DE EDAD					
	21-30 años		31-50 años		51-80 años	
	Nº	FIBRONECTINA (µg/mL)	Nº	FIBRONECTINA (µg/mL)	Nº	FIBRONECTINA (µg/mL)
HOMBRES	21	300.1 ± 61.9	25	366.5 ± 70.2	15	349.6 ± 58.6
MUJERES	19	267.1 ± 67.6	26	316.8 ± 80.4	15	360.0 ± 91.0
TOTALES	40	284.4 ± 61.1	51	340.1 ± 79.2	30	354.8 ± 75.3

VALORES DEL t-test ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVOS

Todos los sujetos	21-30 años v todos los sujetos	31-50 años: $t = 3.79$ ($p < 0.01$)
Hombres	21-30 años v hombres	31-50 años: $t = 3.40$ ($p < 0.01$)
Mujeres	21-30 años v mujeres	31-50 años: $t = 2.24$ ($p < 0.05$)
Hombres	31-50 años v mujeres	31-50 años: $t = 2.34$ ($p < 0.05$)

3.4.2. F_n PLASMÁTICA EN DISTINTOS PROCESOS PATOLÓGICOS

Stathakis también estudió los niveles de F_n medidos en distintos procesos patológicos⁽¹⁶⁹⁾. Así, en enfermos con *cancer*, los niveles de F_n plasmática no difieren de los sanos, aunque en el 20% de los casos los valores obtenidos individualmente son supra o infranormales. Esto puede indicar que entre los enfermos con *cancer* existen subgrupos con niveles de F_n anormalmente elevados o disminuídos. Según su estudio, el lugar de origen del *cancer* no influye en la concentración de F_n plasmática, al menos en los carcinomas de pulmón, estómago, hígado, páncreas y ovarios. Sin embargo, los niveles de F_n si están relacionados con algunas complicaciones de esta enfermedad como ictericia obstructiva, criofibrinogenemia y metástasis hepáticas.

Tabla 5. Niveles de fn en distintos estados patológicos⁽¹⁶⁹⁾.

GRUPO	NUMERO	EDAD (años)	FIBRONECTINA (µg/mL)
Criofibrinogenemia	11	55.8 ± 11.5	282.2 ± 110.2*
Distintos tipos de cancer con metástasis hepáticas	10	62.6 ± 10.0	259.8 ± 79.9 [†]
Pacientes con ictericia obstructiva secundaria a carcinoma pancreático	9	58.7 ± 11.7	444.6 ± 81.6 [‡]
Infección grave o sepsis	24	52.7 ± 12.6	284.4 ± 183.6 [§]
Cirrosis biliar primaria	5	45.4 ± 7.9	630.8 ± 136.0**
Síndrome nefrótico	10	42.4 ± 13.6	443.0 ± 127.0 ^{††}

*Pacientes (-) versus pacientes (+): $t = 2.12$ ($p < 0.05$)

[†]Pacientes versus controles : $t = 3.28$ ($p < 0.01$)

[‡]Pacientes versus controles : $t = 3.98$ ($p < 0.001$)

[§]Pacientes versus controles : $t = 1.4$ ($p > 0.05$)

**Pacientes versus controles : $t = 4.7$ ($p < 0.001$)

^{††}Pacientes versus controles : $t = 2.5$ ($p < 0.05$)

En pacientes con *criofibrinogenemia* detectó niveles ligeramente inferiores, que podrían estar justificados por el catabolismo de las proteínas secundario a la formación de fibrina intravascular. Este mecanismo también explicaría la importante disminución en la concentración plasmática de Fn que encontró en los casos con CID.

En los casos con *ictericia obstructiva* debida a carcinomas pancreáticos se detectaron niveles ligeramente aumentados, y muy altos en los casos de *cirrosis biliar primaria*.

También la concentración plasmática de Fn aumenta ligeramente en el *síndrome nefrótico*.

Sin embargo, a diferencia de lo observado en la mayoría de estudios, Stathakis no detectó disminución en los niveles de Fn en casos de *sepsis* (ver Tabla 5)

En un trabajo realizado por Llena Puy⁽¹⁴¹⁾ en pacientes afectos de distintas *hepatopatías* (cirrosis, hepatitis crónica activa, hepatitis aguda) halló un descenso de la Fn plasmática en aquellos pacientes que tenían más gravemente afectada la función hepatocelular, sin distinguir la etiología del proceso. En pacientes con *colestasis*⁽¹⁴¹⁾ detectó cierta tendencia a elevarse los niveles plasmáticos de Fn, sin llegar a diferenciarse estadísticamente de los controles sanos.

Forkman *et al*⁽¹⁷⁰⁾ observaron niveles muy altos de Fn plasmática en pacientes con colestasis recurrente del embarazo. Esto parece indicar que el aumento de la concentración de Fn es la característica común en la colestasis, independientemente de su etiología. Esta elevación puede ser debida probablemente a un defecto en la eliminación de la misma (acumulación retrógrada) y en segundo lugar, por un aumento en la síntesis por el estrés a que está sometido el hepatocito⁽¹⁴¹⁾.

La concentración en el plasma es ligeramente superior a la del suero, debido a que la Fn se incorpora en la matriz de fibrina gracias a la mediación del FXIII o factor estabilizador de la fibrina.

II. OBJETIVOS

Dada la importante repercusión que tienen en nuestros días los procesos sépticos, se hace imprescindible el empleo de todo tipo de herramientas que nos faciliten el diagnóstico precoz y específico de esta enfermedad para, de este modo, poder instaurar el tratamiento antibiótico inmediatamente y conseguir la curación del enfermo.

En nuestro estudio nos planteamos tres objetivos:

1. Evaluar la aplicación práctica de la concentración plasmática de Fn como marcador temprano en el diagnóstico y pronóstico de enfermos sépticos, ayudando al médico en las fases precoces de la enfermedad, cuando los síntomas son dudosos e inespecíficos.

2. Valorar la utilidad como criterio de etiopatogenicidad, observando si su comportamiento difiere en función de los resultados obtenidos en los cultivos microbiológicos.

3. Observar la evolución en el tiempo de los niveles de Fn plasmática en los pacientes sépticos, hasta que fallecen o se considere que han remontado la enfermedad; constatando si existe correlación estadística entre el estado clínico y la concentración de Fn obtenida. Para la evaluación del estado clínico de los enfermos emplearemos un sistema de valoración clínica o score.

III. MATERIAL Y METODOS

Se diseñó un estudio de Casos y Controles que consistió en muestras no apareadas con triple control.

La captación de los casos y de los controles se llevó a cabo en el Hospital General de Segovia y la duración fue de seis meses (Febrero-Agosto 1995).

Las determinaciones de concentración de F_n plasmática se realizaron en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

1. SELECCION DE LOS GRUPOS CONTROLES

Se seleccionaron tres cohortes de controles.

1.1. CONTROLES VOLUNTARIOS SANOS

Constituído por trabajadores voluntarios sanos del Hospital General de Segovia.

1.2. CONTROLES DE PATOLOGIA VARIADA (CPV)

Grupo formado por un grupo de pacientes hospitalizados con diferentes patologías de etiología no infecciosa como infarto agudo de miocardio, insuficiencia respiratoria, carcinomas...etc.

1.3. CONTROLES “FIEBRES AISLADAS” O CASOS ELIMINADOS

Este grupo lo integran pacientes ingresados durante el periodo de estudio a los que, a petición de su médico, se les extrajo hemocultivos. Posteriormente se constató que no cumplían los criterios de inclusión requeridos (signos de SRIS y/o etiología infecciosa) por lo que fueron descartados como casos y pasaron a formar el grupo que denominamos “fiebres aisladas” ya que éste era el único síntoma que presentaban la mayoría de ellos.

2. SELECCION DE LOS CASOS

Se seleccionó un grupo de individuos con sospecha clínica de Sepsis según los criterios recomendados por la ACCP/SCCM.

2.1. CRITERIOS DE INCLUSION DE LOS CASOS

Este grupo está constituido por pacientes en los cuales se sospecha un proceso séptico, en cualquiera de sus posibles estadios de gravedad: Sepsis Leve, Sepsis Severa, Shock Séptico o Fallo Multi-Orgánico*.

Atendiendo a los criterios propuestos por la ACCP/SCCM, se diagnosticó Sepsis Leve ante un cuadro de SRIS de probable origen infeccioso.

El SRIS se evidencia cuando en un paciente se dan dos o más de los siguientes signos:

- a) Temperatura corporal superior a 38°C.
- b) “ “ inferior a 36°C.
- c) Frecuencia Cardíaca mayor de 90 latidos/minuto.
- d) Frecuencia Respiratoria superior a 20 respiraciones/minuto.
- e) Recuento de Leucocitos superior a 12.000 células/mm³.
- f) “ “ “ inferior a 4.000 células/mm³.
- g) En la fórmula leucocitaria, más del 10% de neutrófilos inmaduros (cayados)

El siguiente grupo, en cuanto a gravedad se refiere, es el de los casos diagnosticados de Sepsis Severa, que se define como la sepsis asociada a una o más de las tres situaciones siguientes:

* Los pacientes diagnosticados de Sepsis Severa y de Shock séptico se unirán en un sólo grupo, debido al escaso número y a la dificultad que entraña distinguirlos clínicamente.

- a) Fallo de un órgano (ver Anexo 1)
- b) Hipoperfusión, que puede reflejarse en forma de
 - b.1) Acidosis láctica,
 - b.2) Oliguria, o
 - b.3) Alteración aguda del estado mental.
- c) Hipotensión inducida por la sepsis, que se diagnostica ante la presencia de
 - c.1) Tensión sistólica TS menor de 90 mm Hg, o
 - c.2) Reducción de la TS de 40 mm Hg desde la basal, en ausencia de otras causas capaces de producir hipotensión (ej. shock cardiogénico)

El siguiente estadio de gravedad es el denominado **Shock Séptico** que equivale a la Sepsis Severa que cursa además con hipotensión persistente a pesar de restaurar fluidos, acompañada de signos de hipoperfusión o fracaso de algún órgano. En determinados casos, el tratamiento con inotropos y vasopresores puede enmascarar la hipotensión, lo cual dificulta el diagnóstico.

En el extremo de gravedad del proceso séptico se encuentra el **Fallo Multi Orgánico** (FMO); se diagnostica FMO cuando se produce la disfunción o fallo de dos o más órganos (ver Anexo 1).

3. TIEMPOS DE MUESTREO

3.1. EXTRACCIONES DE F_n EN LOS CONTROLES

3.1.1. *Controles Sanos*: una única extracción.

3.1.2. *Controles De Patología Variada*: dos extracciones de F_n separadas en el tiempo de 4 a 5 días.

3.1.3. *Fiebres Aisladas o Casos Eliminados*: una única medición (la que acompaña a la solicitud de hemocultivo).

3.2. EXTRACCIONES DE Fn EN LOS CASOS

Se realizó un muestreo de extracciones seriadas. La primera toma en el momento de la sospecha clínica de sepsis (a la vez que el hemocultivo), la segunda a los dos días y, posteriormente, el resto de las mediciones se realizaron cada 4 días aproximadamente, hasta que se consideró que el proceso séptico había remitido, o el paciente fallecía. Aquellos casos en los que el cuadro se resolvía antes de la segunda extracción, fueron rechazados.

4. TECNICA ANALITICA DE MEDICION DEL INDICADOR

4.1. PRINCIPIO DEL METODO

La cuantificación de la Fn se lleva a cabo mediante un método nefelométrico.

La Fn contenida en el suero humano forma con anticuerpos específicos, por medio de una reacción inmunoquímica, inmunocomplejos los cuales pueden dispersar un rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de proteína en la muestra.

La valoración se hace comparando con un estándar de concentración conocida.

4.2. REACTIVOS

El N Antisuero contra la Fn es un suero líquido de origen animal, producido mediante inmunización de conejos con Fn humana de alta pureza. Los componentes lábiles del antisuero se retiran utilizando un proceso especial de estabilización. Las impurezas microbiológicas se excluyen por filtración estéril y por la adición de azida de sodio (<1g/L) como medio de conservación.

El antisuero específico, purificado mediante inmunoadsorción de fase sólida, después de someterse a pruebas especiales, se ajusta de tal forma que se obtenga una óptima capacidad al usarse en el nefelómetro Behring.

El título del anticuerpo (T) se obtiene por inmunodifusión radial y viene dado en la etiqueta. Este valor indica cuantos miligramos del antígeno por mililitro del antisuero se pueden precipitar en un gel de agarosa.

4.3. MATERIAL A INVESTIGAR

Muestras de plasma heparinizado.

Las muestras altamente lipémicas o muestras que presenten turbidez después de la descongelación fueron aclaradas por centrifugación (10 minutos a 15 000 x g) antes de ser ensayadas.

4.4. INSTRUMENTACION

Nefelómetro N100 de Behring.

5. DESCRIPCION DEL SCORE

En nuestro estudio, para evaluar de la manera más objetiva posible la evolución clínica diaria de los pacientes, nos servimos de un sistema de score que calculamos diariamente en todos los pacientes.

Diseñamos un sistema de score propio, usando como referencia el APACHE III y SAPS II que exponemos a continuación:

	FC 147/101*	SODIO mEq/l*	CREA mg/dl*	CREA(PRA) mg/dl*	GLUC mg/dl*	ALBUM g/dl*	BILIRR mg/dl*	BUN mg/dl*	pH/pCO ₂						
17	>155													>40	>30
16							>8								20-24.9
15															
14															
13	140-154													39-39.9	
12															18-19.9
11								>80 40-79							
10				>1.5											15-17.9
9															
8							5-7.9								
7	120-139		>1.95					20-39						38-38.9	
6															12-14.9
5	110-119				>350		3-4.9								
4		>155	1.5-1.94			>4.5	2-2.9								
3					200-349										
2														>5	>50
1	100-109							17-19						>200	
0	50-99	135-155	0.5-1.49	0-1.49	60-199	2.5-4.4	<1.9	<16.9						100-199	3-4.9
1														40-49.9	3-3.99
2		120-134												35-39.9	35-35.9
3		<119	<0.49											<3	2-2.999
4															2.5-2.9
5	40-49													70-99	30-34.9
6															1-1.999
7						2-2.4									
8	<39				40-59										34-34.9
9					<39										2-2.4
10															
11							<1.9								
12															0.4-0.59
13														<70	<25
14															33.5-33.9
15															<0.39
16															33-33.4
17															1-1.4
18															
19															<1
20															<32.9

Las variables *Frecuencia cardíaca*, *Sodio*, *Creatinina* (con o sin Fracaso Renal Agudo), *Glucosa*, *Albúmina*, *Bilirrubina*, *BUN* y *pH/pCO₂* corresponden a la escala APACHE III. La *Presión Sistólica* y el *Potasio* al sistema SAPS II. No se valoró la *Situación Neurológica* diaria

Dado que nuestro objetivo no era calcular un índice de riesgo de mortalidad, sino únicamente observar en cada individuo la modificación en su situación clínica de un día para otro, y compararla con los niveles de Fn medidos, no tuvimos en cuenta otras variables como son la edad, enfermedad de base o tipo de admisión (médica, quirúrgica) que son constantes para cada individuo.

Por otro lado, el hecho de que los pacientes fueran adultos ingresados en Servicios diferentes, con distinta gravedad y manejos muy dispares, hizo que no se dispusiera de todas las variables diariamente en todos los casos sometidos a estudio. Los pacientes más graves, ingresados en el Servicio de UCI, fueron los más completos puesto que se les realizaban prácticamente a diario análisis bioquímicos, hemograma, medida de la diuresis...etc; sin embargo, a los pacientes ingresados en servicios como Medicina Interna, Urología, Cirugía...etc que, en general, revestían menor gravedad, se les hacían analíticas cada 5 o 7 días. Por este motivo no se utilizaron todas las variables en todos los pacientes, sino que en cada caso, se escogían las variables de que disponíamos durante el periodo de estudio.

Junto con el Servicio de UCI de nuestro Hospital, modificamos las escalas de algunas de las variables y dotamos de mayor potencia a las variables *Hipertermia*, *Leucocitosis*, y *Oliguria* para aumentar la sensibilidad a la hora de estimar la evolución clínica diaria en cada paciente; así por ejemplo, según el APACHE III, se adjudica cero puntos al intervalo de temperatura que va de 36 a 39.9°C, y también cero puntos al intervalo de leucocitos/mm³ que va desde 3.000 hasta 19.900. Establecimos una serie de intervalos intermedios con puntuación creciente, de tal forma que, por ejemplo, al intervalo que va de 39 a 39.9 °C de temperatura le dimos una puntuación de 13 y al intervalo que va de 18.000 a 19.900 leucocitos/mm³, le asignamos 12 puntos.

Comparaciones en las puntuaciones recomendadas por el APACHE (izquierda) y nuestro Score (derecha).

17						>40		>30
16								20-24.9
15								
14								
13						39-39.9		18-19.9
12								
11								
10								15-17.9
9								
8								
7						38-38.9		
6								12-14.9
5								
4							>25	
3	>50	>50				>40		
2								
1								
0	41-49	40-49.9	>4	>4	36-39.9	36-37.4		20-24.9
1			2-3.99	3-3.99				3-19.9
2								3-9.9
3	<40.9	35-39.9		2-2.999	35-35.9	35-35.9		
4			1.5-1.99					2.5-2.9
5		30-34.9	0.9-1.49					
6				1-1.999				1-2.9
7			0.6-0.89					
8			0.4-0.59		34-34.9	34-34.9		2-2.4
9		25-29.9		0.6-0.999				
10								
11								
12				0.4-0.59				1.5-1.9
13		<25			33.5-33.9	33.5-33.9		
14								
15			<0.39	<0.39				
16					33-33.4	33-33.4		1-1.4
17								
18								
19							<1	<1
20					<32.9	<32.9		

6. ANALISIS DE LOS RESULTADOS

6.1. PUNTOS DE CORTE O DISCRIMINATORIOS

Buscaremos dos puntos de corte que consisten en valores de concentración de F_n plasmática que, con la mayor sensibilidad y especificidad posibles, sean capaces de discriminar entre diferentes grupos de individuos.

Uno de los puntos de corte tendrá capacidad para diferenciar los pacientes *Sépticos* —Casos— respecto al resto de *Controles* —Controles Sanos y de Patologías Variadas—; y el

segundo punto de corte podrá distinguir a los sujetos *Sanos* de los que padecen alguna enfermedad (Sepsis o cualquier otro tipo)—*Casos y Controles de Patología Variada*—.

Para ello calcularemos y representaremos gráficamente la Sensibilidad y la Especificidad en varios niveles diferentes de concentración plasmática de Fn y escogeremos como valor umbral los que consideremos más convenientes.

Otra forma de representar la evolución de los valores de sensibilidad y especificidad según el punto de corte, es mediante *una curva ROC* (“*Receiver Operating Characteristic*”), denominada en el contexto clínico *Curva de Rendimiento Diagnóstico* (“*Performance Characteristic Curve*”). Estos gráficos y el cálculo del área bajo la curva los encontraremos en el Anexo 3.

6.2. PRUEBAS ESTADISTICAS APLICADAS

El tratamiento estadístico a que fueron sometidos los resultados, consta de las siguientes pruebas:

1. Prueba *t de Student para Grupos Independientes* que nos permite valorar si los grupos de casos y controles se distribuyen homogéneamente en cuanto a la edad y el sexo.

2. Prueba *t de Student para Datos Apareados* para observar si existe diferencia entre las dos tomas practicadas a los Controles de Patología Variada.

3. Estudio de *Contrastes A Priori*. Es un método que se utiliza cuando un investigador diseña un experimento y desea verificar su hipótesis nula. Estos contrastes se plantean independientemente del resultado obtenido en la experiencia y corresponden a una *actitud confirmatoria de una hipótesis previa*.

En nuestro estudio lo emplearemos para confirmar, por un lado, la hipótesis nula de la que partimos “que los niveles de Fn detectados en la primera extracción en el grupo constituido por los Casos es diferente —menor— a la concentración de Fn medida en los grupos Controles” y, por otro lado, para confirmar la hipótesis de “que la primera extracción practicada a los Casos que superaron el proceso infeccioso difiere, en cuanto a concentración plasmática de Fn medida se refiere, de la segunda y de la última extracciones realizadas a estos Casos”.

4. Estudio de *Contrastes A Posteriori* mediante la prueba de *Comparaciones Múltiples De Bonferroni*. Esta prueba se basa en la *t de Student-Fisher*, con una protección contra el incremento de la probabilidad de error mediante la sustitución del riesgo α por un umbral de significación α^* más bajo cuyo valor se calcula con la siguiente fórmula.

$$\alpha^* = \frac{\alpha}{\frac{c(c-1)}{2}}$$

5. Por último, planteamos un *estudio de correlación* entre los niveles de Fn de los pacientes y su puntuación en el Score correspondiente a ese día. Para ello previamente codificaremos las dos variables en distintos intervalos.

5.1. Mediante la prueba de *Mantel-Haenszel* observaremos si existe correlación con Tendencia Lineal entre ambas variables.

5.2. A través de un estudio de *Regresión Logística* calcularemos el Coeficiente de Correlación “r”, que es un indicador del grado de asociación lineal entre las dos variables. El coeficiente de correlación oscila entre -1 (asociación lineal perfecta negativa) y +1 (asociación lineal perfecta positiva). Un valor nulo indica ausencia de asociación lineal entre las variables.

5.3. También calcularemos la Pendiente y la Ordenada en el origen de la ecuación de la recta.

IV. RESULTADOS

1. DESCRIPCION Y RESULTADOS EN LOS CONTROLES

1.1. CONTROLES SANOS

Se obtuvo un grupo de 22 controles voluntarios sanos entre los trabajadores del Hospital (9 hombres y 13 mujeres).

La media de edad de este grupo fue de 32.1 años (DE=4.59). Distinguiendo por sexos, en los hombres fue de 33.7 años (DE=3.4) y en las mujeres de 31 años (DE=5.1). Aplicando la prueba estadística t de Student no se detectó diferencia significativa en cuanto a la edad entre los dos sexos (p=0.186).

Tabla 6. Resultados en los Controles Sanos. F: Femenino; M: Masculino. Fn: Fibronectina.

Nº	SEXO	EDAD (años)	Fn(µg/mL)
1	F	30	212
2	F	28	163
3	F	32	288
4	F	45	204
5	F	32	265
6	F	31	215
7	F	27	321
8	F	28	308
9	F	32	246
10	F	30	332
11	F	32	272
12	F	29	182
13	F	38	343
14	M	29	316
15	M	35	390
16	M	37	135
17	M	33	380
18	M	39	242
19	M	29	276
20	M	33	240
21	M	36	217
22	M	32	153

La media de Fn plasmática del grupo de controles sanos fue de 260.59 $\mu\text{g/mL}$ (DE=70.79). La concentración media de Fn fue muy similar en las mujeres y en los hombres: 258.00 $\mu\text{g/mL}$ (DE=59.53) y 264.33 $\mu\text{g/mL}$ (DE=88.38) respectivamente. Mediante la prueba t de Student constatamos que no existe diferencia estadísticamente significativa entre sexos ($p=0.842$).

1.2. CONTROLES DE PATOLOGIA VARIADA (CPV)

Conseguimos 22 individuos como Controles de Patología Variada (12 hombres y 10 mujeres). Se trata de pacientes ingresados en el Servicio de Medicina Interna con diferentes patologías como infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca, hemorragia digestiva alta, accidente cerebro-vascular agudo, insuficiencia respiratoria, pancreatitis, etc; todos ellos de etiología no infecciosa. La media de edad en los hombres fue de 56.8 años (DE=22.3) y en las mujeres de 63.2 años (19.8). No se detectó diferencia significativa, en cuanto a la edad se refiere, en función del sexo ($p=0.491$).

A este grupo de controles se les extrajo dos muestras de Fn espaciadas en el tiempo de 4 a 5 días.

La media en la concentración plasmática de Fn en la primera extracción fue de 180.9 $\mu\text{g/mL}$ (DS=67.36). En función del sexo, los resultados obtenidos en la primera extracción fueron de 190.4 $\mu\text{g/mL}$ (DE=71.13) en los hombres, y de 169.5 $\mu\text{g/mL}$ (DE=64.32) en las mujeres. Aplicando la prueba t de student para grupos independientes no se detectó diferencia significativa entre sexos ($p=0.482$).

En la segunda extracción realizada unos días después, la media en las concentraciones de Fn halladas fue de 198.77 $\mu\text{g/mL}$ (DE=81.97). En los hombres la media fue de 195.83 $\mu\text{g/mL}$ (DE 91.8), y en las mujeres de 202.3 $\mu\text{g/mL}$ (DE=73.16). Tampoco aquí se detectó diferencia significativa en función del sexo ($p=0.859$).

Por último, puesto que las dos tomas pertenecían al mismo individuo, aplicamos la prueba t de Student para datos apareados a las variables primera y segunda extracción de Fn. No se detectó diferencia estadísticamente significativa entre las dos toma de Fn ($p=0.111$).

Tabla 7. Descripción de los Controles de Patología Variada. F: Femenino; M= Masculino; IAM: Infarto agudo de miocardio; IRC: Insuficiencia renal crónica; DMID: Diabetes mellitus insulino dependiente; HTA: Hipertensión arterial; EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FA: Fibrilación auricular; LLC: Leucemia linfocítica crónica; HDA: Hemorragia digestiva alta.

1	M	45	92	80	Insuficiencia respiratoria + Insuficiencia Cardíaca
2	F	44	133	184	Derrame pleural recidivante de etiología incierta
3	M	70	239	211	Accidente cerebrovascular agudo
4	F	59	247	228	IAM + IRC + DMID + HTA
5	F	82	232	155	IAM + EPOC
6	M	73	264	291	ICC + Alteración de enzimas hepáticos
7	M	48	197	152	FA + HDA + Anticoagulantes orales
8	F	69	251	265	Insuficiencia Respiratoria
9	M	29	168	141	Miomas
10	M	18	187	217	Crhon
11	M	64	159	175	HDA + Broncolectomía crónica
12	M	68	228	304	EPOC+FA crónica
13	F	85	80	168	Demencia
14	M	45	117	80	IAM
15	F	85	80	155	HTA
16	M	49	120	137	IAM
17	M	88	174	128	EPOC + Trauma
18	F	50	203	372	Trauma
19	F	23	123	128	LLC
20	F	73	170	159	HDA
21	F	64	176	215	Hipotiroidismo
22	M	85	346	378	EPOC + Prostatismo

1.3 CONTROLES “FIEBRES AISLADAS”(casos eliminados por no cumplir criterios de sepsis)

De las 113 primeras extracciones de Fn que recibimos como probables casos, tan solo 43 pacientes cumplían los criterios de sepsis recomendados por la ACCP/SCCM, los 70 pacientes restantes formaron el grupo denominado “fiebres aisladas” (porque en la mayoría de los casos era el único signo que justificaba la extracción del hemocultivo).

Dentro del grupo de fiebres aisladas, en 55 hemocultivos no se aisló ningún germen, 5 casos fueron informados por el laboratorio de Microbiología como contaminados y en 10 pacientes se aislaron diferentes microorganismos en los hemocultivos o en otras muestras relacionadas.

En este grupo de controles la media total de niveles de Fn en los que tuvieron cultivos negativos o contaminados fue de 218.17 $\mu\text{g/mL}$ (DE=97.79). Diferenciando según el sexo, la de los hombres (n=40) fue de 207.9 $\mu\text{g/mL}$ (DE=99.03) y la de las mujeres (n=20) de 238.7 $\mu\text{g/mL}$ (DE=94.32). Aplicando la prueba t de Student para grupos independientes se demuestra que no existe diferencia significativa en función del sexo en este grupo (p=0.254).

La media de Fn en los pacientes con cultivos positivos (n=10) resultó muy inferior a la del grupo anterior: 140.9 $\mu\text{g/mL}$ (DE=67.59). Debido al pequeño tamaño de la muestra no analizamos los resultados en función del sexo.

Realizando una comparación de medias mediante la prueba t de Student para grupos independientes, se demostró la existencia de diferencia estadísticamente significativa al comparar los niveles de Fn entre el grupo de pacientes con cultivo positivo y el constituido por pacientes eliminados con cultivos negativos o contaminados (p=0.019).

Tabla 8. Descripción del grupo "Fiebres Aisladas" con Cultivos Negativos y Contaminados. F: Femenino; M: Masculino; Hc: Hemocultivo; Neg: Negativo.

Nº	SEXO	Temperatura (°C)	CULTIVOS
1	M	368	2 Hc: Neg
2	M	311	3 Hc: Neg
3	M	271	2 Hc: Neg
4	M	179	3 Hc: Neg
5	M	171	3 Hc: Neg
6	M	110	3 Hc: Neg
7	M	377	3 Hc: Neg
8	M	80	3 Hc: Neg
9	M	83	2 Hc: Neg
10	M	400	2 Hc: Neg
11	M	352	2 Hc: Neg
12	M	225	2 Hc: Neg
13	M	197	2 Hc: Neg
14	M	294	3 Hc: Neg
15	M	498	2 Hc: Neg
16	M	156	3 Hc: Neg
17	M	76	2 Hc: Neg
18	M	187	3 Hc: Neg
19	M	155	3 Hc: Neg
20	M	144	2 Hc: Neg
21	M	304	2 Hc: Neg
22	M	121	4 Hc: Neg
23	M	76	3 Hc: Neg
24	M	121	3 Hc: Neg
25	M	166	2 Hc: Neg
26	M	262	3 Hc: Neg
27	M	133	2 Hc: Neg
28	M	283	3 Hc: Neg
29	M	250	3 Hc: Neg
30	M	121	2 Hc: Neg

Nº	SEXO	Temperatura (°C)	CULTIVOS
31	M	166	3 Hc: Neg
32	M	187	3 Hc: Neg
33	M	174	2 Hc: Neg
34	M	203	2 Hc: Neg
35	M	123	2 Hc: Neg
36	M	170	3 Hc: Neg
37	M	176	1 Hc: Contamin+2 Hc: Neg
38	M	297	1 Hc: Contamin+1 Hc: Neg
39	M	211	1 Hc: Contamin+1 Hc: Neg
40	M	138	1 Hc: Contamin+4 Hc: Neg
41	F	94	2 Hc: Neg
42	F	450	2 Hc: Neg
43	F	182	2 Hc: Neg
44	F	331	2 Hc: Neg
45	F	119	3 Hc: Neg
46	F	168	2 Hc: Neg
47	F	226	3 Hc: Neg
48	F	296	3 Hc: Neg
49	F	262	2 Hc: Neg
50	F	272	3 Hc: Neg
51	F	230	2 Hc: Neg
52	F	121	2 Hc: Neg
53	F	442	2 Hc: Neg
54	F	209	3 Hc: Neg
55	F	251	2 Hc: Neg
56	F	219	2 Hc: Neg
57	F	294	2 Hc: Neg
58	F	187	3 Hc: Neg
59	F	170	2 Hc: Contamin+1 Hc: Neg
60	F	251	1 Hc: Contamin+1 Hc: Neg

73

RESULTADOS

Tabla 9. Descripción del grupo "Fiebres Aisladas" con Cultivos Positivos. F: Femenino; M: Masculino; Hc:Hemocultivo; Neg:Negativo.

61	M	86	2 Hc: Neg; Orina: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
62	M	87	1 Hc: <i>Bacteroides ovatus</i> ; 2 Hc: <i>Bacteroides. thetaiota</i>
63	M	80	1 Hc: <i>Peptococcus spp.</i> ; 1 Hc: Neg
64	M	80	1 Hc: <i>Staphylococcus epidermidis</i> ; 2 Hc: Neg; Bilis: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
65	M	86	3 Hc: <i>Escherichia coli</i> ; 1 Hc: Neg; Orina: <i>Escherichia coli</i>
66	M	246	2 Hc: Neg; Orina: <i>Escherichia coli</i> ; Exudado Uretral: <i>Escherichia coli</i>
67	F	110	1 Hc: <i>Staphylococcus hominis</i> ; 1 Hc: Neg
68	F	170	2 Hc: Contaminados + 1 Hc: Neg; Orina-Loquios: <i>Streptococcus agalactiae</i>
69	F	155	2 Hc: Neg; Orina: <i>Escherichia coli</i>
70	F	262	2 Hc: Neg; Bilis: <i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Escherichia coli</i> ; Orina: <i>Escherichia coli</i>

2. RESULTADOS EN LOS CASOS

Los criterios de inclusión que debían cumplir los individuos susceptibles de formar parte del grupo de Casos están descritos en el capítulo de Material y Métodos y consisten en tener la sospecha bien fundada de que el agente causante del SRIS es un microorganismo infeccioso. Como ya se explicó, se diagnostica un SRIS cuando se dan dos o más de los siguientes signos:

- a) Temperatura corporal superior a 38°C.
- b) “ “ inferior a 36°C.
- c) Frecuencia cardíaca mayor de 90 latidos/minuto.
- d) Frecuencia respiratoria superior a 20 respiraciones/minuto.
- e) Recuento de leucocitos superior a 12.000 células/mm³.
- f) “ “ “ inferior a 4.000 células/mm³.
- g) En la fórmula leucocitaria, más del 10% de neutrófilos inmaduros (cayados).

En la tabla 10 vemos los criterios que cumplían cada uno de los casos que resumimos a continuación:

- El 37% de los casos (16 pacientes) debutan con dos de los signos que definen el SRIS.
- El 42% (18 pacientes) con tres síntomas.
- El 16% (7 pacientes) con cuatro signos
- Y tan sólo el 5% (2 pacientes) con cinco síntomas.

Como podemos observar en la tabla, la fiebre es el signo que aparece con mayor frecuencia, en el 93% de los casos (40 pacientes). Otros signos importantes son la leucocitosis y la taquicardia que se detectan en el 67 y 65% (29 y 28 pacientes) de los casos respectivamente. La hipotermia de comienzo tan sólo la detectamos en un paciente aunque, en algún caso, partiendo de fiebre o normotermia, al empeorar el estado clínico, entraron en rango de hipotermia. Respecto a la neutropenia tenemos que decir que cuatro de los siete pacientes en los que se detectó correspondían a individuos con neutropenia inducida por la administración de tratamientos antineoplásicos, fundamentalmente en pacientes con enfermedades hematológicas malignas.

Tabla 10. Criterios de SRIS cumplidos por los Casos.

Nº	A	B	C	D	E	F	G
1	X				X		X
2	X				X		
3	X				X		
4	X				X		
5	X		X		X		
6	X		X		X		
7	X				X		X
8			X		X		X
9	X		X		X		
10	X		X			X ²	
11	X		X	X		X ²	
12	X				X		
13	X				X		
14	X				X		
15	X		X			X ²	
16	X				X		X
17	X		X				X
18	X		X		X		X
19	X					X	X
20	X		X				
21	X		X		X		X
22	X		X	X		X	
23	X		X	X	X		
24	X		X		X		
25	X		X			X	X
26	X		X				
27	X		X		X		X
28	X		X		X		X
29	X		X		X		
30	X		X		X		
31	X		X	X	X		X
32			X				X
33	X				X		
34		X			X		X
35	X		X				X
36	X		X			X ²	
37	X		X	X	X		X
38	X		X		X		
39	X		X				
40	X						X
41	X				X		X
42	X				X		
43	X		X		X		

¹ A) Temperatura corporal superior a 38°C; B) Temperatura inferior a 36°C; C) Frecuencia Cardíaca mayor de 90 latidos/minuto; D) Frecuencia Respiratoria superior a 20 respiraciones/minuto; E) Recuento de Leucocitos superior a 12.000 células/mm³; F) Recuento de Leucocitos inferior a 4.000 células/mm³; G) En la fórmula leucocitaria, más del 10% de neutrófilos inmaduros (cayados).

² Pacientes con neutropenia inducida por fármacos antineoplásicos.

2.1. DESCRIPCION GENERAL DE LOS CASOS

Durante el período que duró el estudio se recibieron 113 hemocultivos acompañados de su correspondiente toma primera de Fn. De todos ellos, sólo 43 pacientes (38.1%) cumplían criterios de SRIS con sospecha de probable origen infeccioso, el 67% de los casos eran hombres y el 33% mujeres.

Las edades de los casos oscilaron entre 21 y 93 años con medias de 62,93 años en los hombres y 72,21 años en las mujeres. No se detectó diferencia significativa en la edad en función del sexo ($p=0.19$).

A continuación realizaremos una descripción de los casos en función del Servicio al que pertenecían, la presencia de enfermedad de base... etc.

2.1.2. Servicio de Hospitalización

El Servicio de Medicina Interna aportó el 32% de los casos (13 pacientes), en segundo lugar la U.C.I. con el 21% (8 pacientes), en tercer lugar el Servicio de Hematología con el 18% (7 pacientes), después Cirugía con el 15% (6 pacientes), el siguiente es Urología con el 8% (3 pacientes) y por último Traumatología y Nefrología con el 3% cada uno de ellos (1 paciente).

2.1.2. Enfermedad de base

Conseguimos la Historia Clínica de 40 casos. El 58% de ellos (23 pacientes) tenían enfermedades de base como Neoplasias, Leucemias, Enfermedad pulmonar obstructiva crónica, Diabetes mellitus insulino dependiente, Insuficiencia renal crónica, etc. (17 hombres y 6 mujeres) y el 43% restante (17 pacientes) eran casos sin patología de base (10 hombres y 7 mujeres).

Tabla 11. Descripción del grupo de Casos Totales. F: Femenino; M: Masculino; A: Alta; E: Exitus. Otras referencias en Abreviaturas.

SE- NO	ID AD	Edad	Sexo	INICIAL	GERMEN EN HC	GERMEN (MUESTRA)	ORIGEN PROBABLE	DIAGNOSTICO	IN.BASE	GRADO	EVOU CION	SERVICIO
1	F	84	80		<i>E.coli</i>		TGI	Colecistitis		S.severa	A	CIRUGIA
2	F	78	80				FOD	FOD	LMMC	S.Leve	A	HEMATO
3	M	37	101				ITU	Prostatitis		S.Leve	A	UROLOG
4	M	64	80			<i>Kl.pneumoniae</i> (LIQUIDO PLEURAL)	RESP	Neumonía		S.Leve	A	M.INTER
5	M	51	80		<i>Micrococcus spp.</i>	<i>S.neumoniae</i> (ESPUTO)					A	
6	M	72	106		<i>S.aureus</i>		TGI	Fistula Intestinal		MOF	E	CIRUGIA
7	M	55	144		<i>K.oxitoca</i>						A	
8	M	82	80			<i>Aspergillus spp.</i> (ESPUTO)	RESP	Neumonía		MOF	E	M.INTER
9	M	72	105		<i>S.epidermidis</i>		TGI	Absceso intra-abdominal	Pancreatitis	S.severa	A	CIRUGIA
10	F	60	102		<i>S.epidermidis</i>		ITU		LNH	S.Leve	A	HEMATO
11	M	58	104		<i>S.epidermidis</i>		RESP	Neumonía	LANL	S.Leve	A	HEMATO
12	F	75	116				RESP	Neumonía	IRC	S.Leve	A	NEFROL
13	M	49	80		<i>S.agalactiae</i>		ITU				A	
14	M	70	345		<i>E.coli</i>		ITU		Cancer Próstata	MOF	A	M.INTER
15	M	74	111		<i>S.neumoniae</i> + <i>S.morbilorum</i>		RESP	Neumonía	LANL	S.severa	A	HEMATO
16	M	64	133			<i>H.influenzae</i> (LIQUIDO PLEURAL)	RESP	Neumonía	Cancer Pulmón	S.Leve	A	M.INTER

17	M	80	80		<i>H. parainfluenzae</i> (ESPUTO)	RESP	Neumonía	EPOC	S.Leve	A	M.INTER
18	F	86	92			RESP	Neumonía		S.severa	A	M.INTER
19	M	74	89		<i>E. coli</i> (BILIS)	TGI	Colecistitis		S.severa	A	CIRUGIA
20	F	73	93	<i>H. haemoliticus</i>		RESP	Neumonía	IRC	MOF	A	UCI
21	M	35	80	<i>S. aureus</i>		VIAS	Colitis Ulcerosa	EII	S.Leve	A	M.INTER
22	F	30	80			FOD	Mononucleosis	DMID	S.severa	A	M.INTER
23	F	81	110							A	
24	M	74	134		<i>P. aeruginosa</i> (ORINA)	ITU	ITU	Cancer Vesical	S.Leve	A	UROLOG
25	M	80	414	<i>B. aerogenes</i>		ITU	Sepsis	Sonda Vesical	S.severa	A	M.INTER
26	M	69	88	<i>E. coli+C. tropicalis</i>		TGI	Gastro-Pericarditis	BNCO	MOF	E	UCI
27	F	75	80	<i>S. agalactiae</i>		CARD	Endocarditis		S.severa S.severa	A	M.INTER
28	M	40	218	<i>E. coli+E. coli</i>		TGI	Colecistitis	Pancreatitis		A	M.INTER
29	M	21	254		<i>S. epidermidis+E. faecalis</i> (CATETER)	TGI		Politrauma	MOF	A	UCI
30	F	59	152			RESP	Neumonía		S.severa	A	UCI
31	F	82	106		<i>E. coli+K. oxytoca</i> (BILIS)	TGI	Colecistitis		S.severa	E	UCI
32	M	75	158			RESP	Neumonía	EPOC	S.severa	A	UCI
33	M	24	80		<i>S. epidermidis</i> (CATETER)	TGI	Crhon	EII	S.severa	A	CIRUGIA
34	F	75	108			TGI	Perforación Intestinal		MOF	E	UCI

35	M	76	80			RESP	Neumonía	MM	S.Leve	A	HEMATO
36	M	74	108			FOD		LLC	S.Leve	A	HEMATO
37	M	63	376	<i>E.coli</i>		TGI		Enolismo	MOF	E	UCI
38	M	93	108	<i>Micrococcus spp.</i>	<i>E.cloacae</i> (BILIS)	TGI	Colecistitis		S.severa	A	CIRUGIA
39	F	83	118			VIAS	Flebitis	Politrauma	S.Leve	A	TRAUMA
40	M	57	80			FOD			S.Leve	A	HEMATO
41	F	70	97			ITU	Sepsis		S.severa	A	UROLOG
42	M	61	80			FOD	Postoperado de Neo de Sigma	Neo de Sigma	S.Leve	A	M.INTER
43	M	81	80			ESCARA	ACVA	Cancer Pulmón	S.severa	A	M.INTER

2.1.3. Estadío de gravedad

En cuanto al estadío de gravedad, el 38% (15 pacientes) fueron diagnosticados de Sepsis Leve, el 41% (16 pacientes) de Sepsis Severa y el 21% de los casos (8 pacientes) de Fallo Multi Orgánico.

2.1.4. Resultado final

De los 43 casos totales, el 86% (37 pacientes) fueron dados de alta y el 14% (6 pacientes) fallecieron.

2.1.5. Focos probables de infección

En los 40 casos que conseguimos la Historia Clínica, los focos de infección probable más frecuentes fueron el *Tracto Gastro-Intestinal* con el 30% (12 pacientes) con diagnósticos de Colecistitis, Abscesos Intraabdominales, etc.; el *Tracto Respiratorio*, con el 30% de los casos (12 pacientes) con el diagnóstico principal de Neumonía; el *Tracto Urinario* en el 18% de los casos (7 pacientes); y *Fiebre de Origen Desconocido* con el 13% (5 pacientes).

2.2. RESULTADOS DE LOS CULTIVOS

Dentro de los casos, el 63% (27 pacientes) cursaron con cultivos positivos, y el 37% restante (16 pacientes) con cultivos negativos.

2.2.1. Resultados en los cultivos en función del sexo

Es llamativa la diferencia que existe entre hombres y mujeres en cuanto al rendimiento diagnóstico de los cultivos. Fue mucho más frecuente el aislamiento de microorganismos en los cultivos realizados en los hombres que en las mujeres. De los 28 hombres que formaron

parte del estudio, en 21 casos se aisló algún microorganismo en los cultivos realizados; sin embargo tan sólo en 6 de las 15 mujeres el cultivo resultó positivo.

2.2.2. Resultados en los cultivos en función del estadio de gravedad

De los 15 pacientes diagnosticados de Sepsis Leve, ocho casos cursaron con cultivos negativos y siete con cultivos positivos

En cuanto a los 16 pacientes diagnosticados de Sepsis Severa en cinco casos los cultivos fueron negativos mientras que en diez pacientes si se obtuvo crecimiento microbiológico

Por último, de los ocho pacientes diagnosticados de FMO, tan sólo en uno de los pacientes no se aisló ningún germen en los cultivos frente a siete casos en los que el cultivo resultó positivo.

2.2.3. Tipo de microorganismo aislado en función del probable foco de infección

Dentro de los 27 casos con cultivo positivo, en 15 pacientes se obtuvo crecimiento de microorganismos gramnegativos, en 11 casos se aisló un grampositivo, en un caso se consiguió cultivo mixto de un gramnegativo más una levadura y en otro Hc creció un hongo.

En función del origen de la infección, los procesos sépticos cuyo probable foco de infección era el *Tracto Gastro-Intestinal* fueron muy frecuentes (12 pacientes), la mayoría eran postoperados que cursaban con enorme gravedad.

El rendimiento en el aislamiento microbiológico resultó ser de casi el 100%: once cultivos positivos y uno negativo.

En siete casos se aisló una bacteria gramnegativa: seis aislamientos de *E.coli* (uno acompañado de *K.oxytoca*, y otro junto a *Candida tropicalis*) y un aislamiento de *E.cloacae*.

En cuatro casos se consiguió aislar microorganismos grampositivos: tres aislamientos de *S.epidermidis* (uno de ellos acompañado de *E.faecalis*) y uno de *S.aureus*.

En cuanto al grupo de casos cuyo probable origen de infección era el *Tracto Respiratorio*, tenemos 12 pacientes de los cuales cinco cursan con cultivos negativos.

De los siete casos en los que se obtuvo aislamiento microbiológico, en los cultivos de cuatro pacientes se aislaron bacterias gramnegativas: *H.influenzae*, *H.parainfluenzae*, *H.haemoliticus* y *K.pneumoniae*; en dos casos se aislaron bacterias grampositivas: uno con *S.epidermidis* y otro con *S.neumoniae* más *S.morbillorum*; y en el último caso se aisló un hongo: *Aspergillus spp.*

El *Tracto Urinario* fue el probable foco de infección en siete pacientes de los cuales dos cursaron con cultivo negativo y en los cinco restantes los aislamientos microbiológicos conseguidos fueron muy variados: tres gramnegativos (*E.coli*, *P.aeruginosa* y *E.aerogenes*) y dos grampositivos (*S.epidermidis* y *S.agalactiae*).

En los cinco casos con *Fiebre de origen desconocido* el resultado de los cultivos fue negativo.

3. CALCULO DE LOS PUNTOS DE CORTE O DISCRIMINATORIOS

Calcularemos dos puntos de corte: uno con capacidad para seleccionar los pacientes sépticos respecto al resto de controles sanos o con otras patologías y otro que diferencie a los individuos sanos de los enfermos.

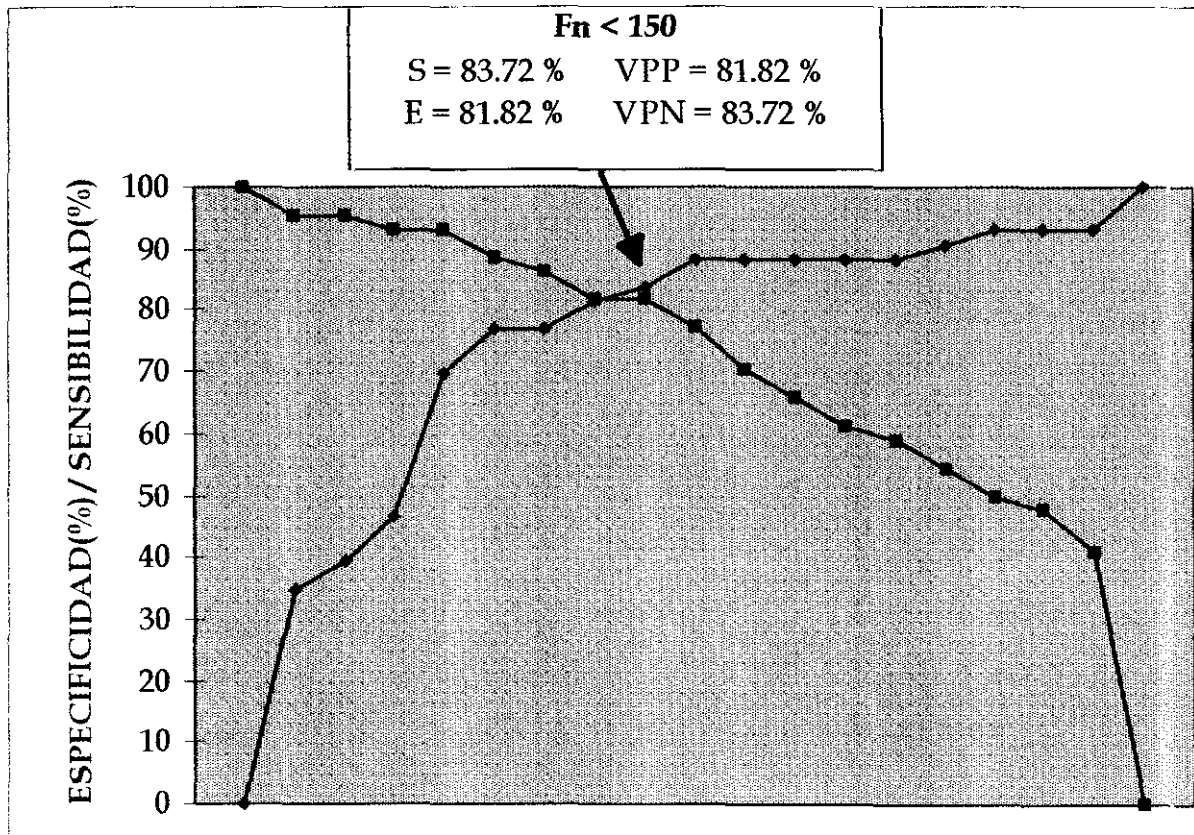
3.1. PUNTO DE CORTE ENTRE CASOS SEPTICOS Y CONTROLES NO SEPTICOS

El primer punto de corte a determinar es el que discrimina los sujetos sépticos del resto de controles (tanto enfermos con otras patologías, como sanos). Debido a la importancia que la detección precoz tiene en este tipo de enfermedad para la inmediata instauración de tratamiento antibiótico, concedemos mayor interés a la sensibilidad aún a costa de perder especificidad y aumentar el número de falsos diagnósticos positivos.

Tabla 12. Sensibilidad y Especificidad para los distintos puntos de corte que diferencian los Casos de los Controles.

PUNTOS DE CORTE ($\mu\text{g/mL}$)	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)
80	34.88	95.46
90	39.54	95.46
100	46.51	93.18
110	69.77	93.18
120	76.74	88.64
130	76.74	86.36
140	81.4	81.82
150	83.72	81.82
160	88.37	77.27
170	88.37	70.46
180	88.37	65.91
190	88.37	61.36
200	88.37	59.09
210	90.7	54.55
220	93.02	50.00
230	93.02	47.73
240	93.02	40.91

Gráfico 5. Sensibilidad (S) y Especificidad (E) en los puntos de corte que diferencian los Casos sépticos de los Controles. VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo.



Para ello, calculamos la sensibilidad y especificidad para cada valor de niveles de F_n plasmática en intervalos crecientes de 10 µg/mL. En el Gráfico 5 representamos la evolución de las dos variables. Consideramos que el valor de 150 µg/mL, con una sensibilidad de 83.72%, especificidad de 81.82%, valor predictivo positivo (VPP) de 81.82% y valor predictivo negativo (VPN) de 83.72%, es el más adecuado. En el Anexo 3 se añade la curva ROC que posee un valor de área bajo la curva (AUC) de 86.09%.

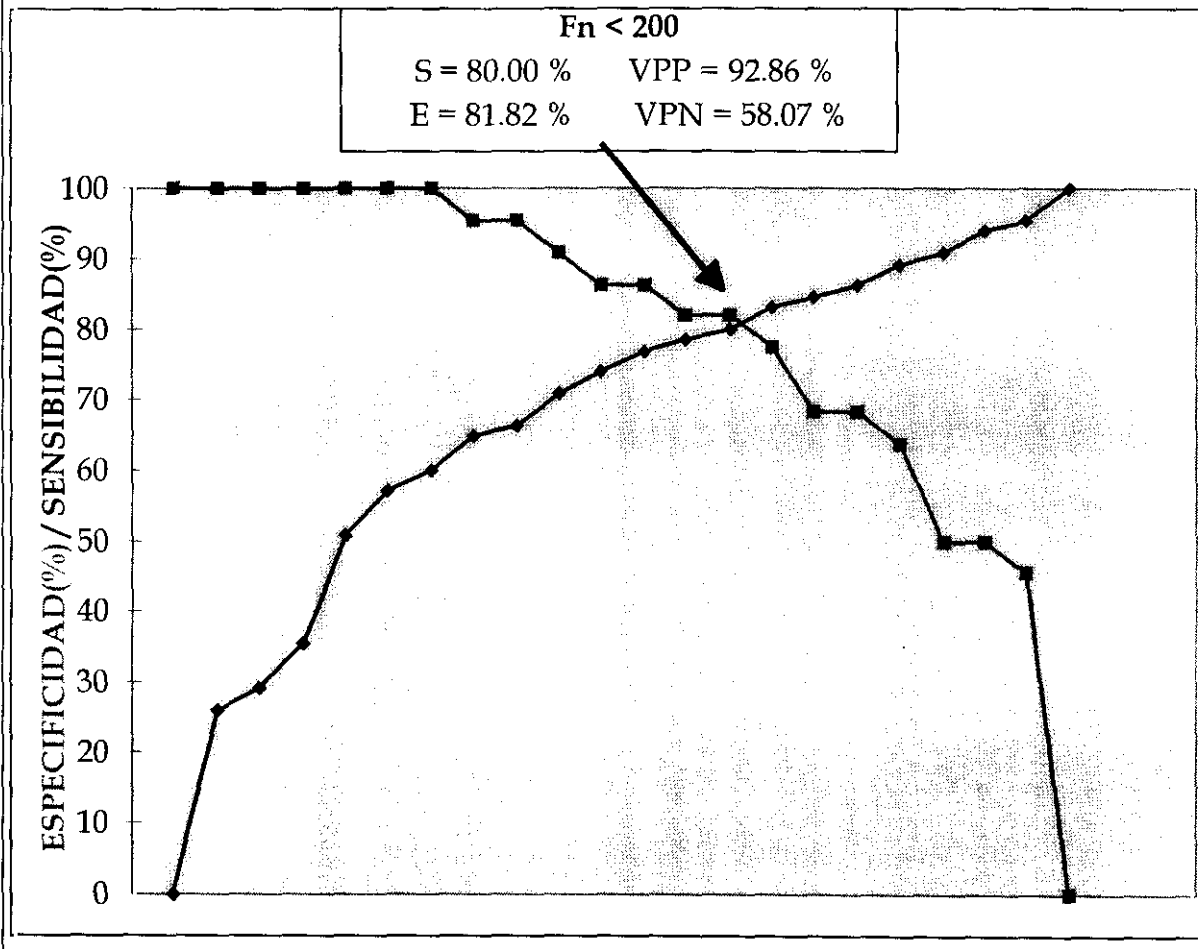
3.2. PUNTO DE CORTE ENTRE CONTROLES SANOS Y ENFERMOS

El segundo de los puntos de corte nos diferencia los individuos sanos del resto de enfermos (controles de patología variada y pacientes sépticos). En este caso podemos aumentar la especificidad en detrimento de la sensibilidad. Escogemos el valor de 200 µg/mL como punto de corte, con una sensibilidad del 80%, especificidad del 81.82%, valor predictivo positivo (VPP) del 92.86% y valor predictivo negativo (VPN) del 58.07%. En el Anexo 3 se representa la curva ROC con un valor del área bajo la curva (AUC) de 88.77%.

Tabla 13. Sensibilidad y Especificidad de los distintos puntos de corte que diferencian los Controles Sanos del resto de grupos (otros Controles y Casos).

PUNTOS DE CORTE (µg/mL)	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)
80	26.15	100
90	29.23	100
100	35.39	100
110	50.77	100
120	56.92	100
130	60.00	100
140	64.62	95.46
150	66.15	95.46
160	70.77	90.91
170	73.85	86.36
180	76.92	86.36
190	78.46	81.82
200	80.00	81.82
210	83.08	77.27
220	84.62	68.18
230	86.15	68.18
240	89.23	63.64
250	90.77	50.00
260	93.85	50.00
270	95.39	45.46

Gráfico 6. Sensibilidad (S) y Especificidad (E) en los niveles de Fn que diferencian Sanos de Enfermos.
 VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo.



4. ANALISIS DE LA UTILIDAD DE LA F_n EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DE SEPSIS

Para estudiar la posible utilidad de los niveles plasmáticos de F_n en el diagnóstico precoz de la sepsis tenemos que demostrar que los niveles de F_n medidos en la primera extracción de los casos es estadísticamente diferente a los obtenidos en el resto de los grupos controles.

En el análisis estadístico, los grupos a comparar son¹:

Grupo 1: Controles Sanos

Grupo 2: Controles de Fiebres Aisladas

Grupo 3: Controles de Patología Variada 1^a extracción (no tenemos en cuenta la segunda medición ya que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las dos)

Grupo 4: Casos Sépticos

Aplicando la prueba estadística de contrastes a priori², confirmamos la veracidad de nuestra hipótesis nula, es decir, que los niveles de F_n plasmática en los casos son diferentes (inferiores) al resto de los controles $p < 0.0005$. El valor del estadístico es $t = 6.995$ con 84.4 grados de libertad para variancias diferentes según la prueba de Levene.

Por otro lado, mediante el test de Bonferroni del programa SPSS que ya explicamos en el apartado Análisis estadístico del capítulo de Material y Métodos, observamos (Ver el cuadro SPSS 1) que el grupo de los Casos Sépticos se diferencia de todos los grupos Controles y que el grupo de Controles Sanos se diferencia estadísticamente, a su vez, de todos los demás grupos Controles excepto el de Fiebres Aisladas. No nos sorprende que el grupo de Fiebres Aisladas tenga unos niveles de F_n muy semejantes al grupo de Controles de Patología Variada y que no exista diferencia significativa entre ellos ya que, en realidad, ambos grupos están constituídos por pacientes ingresados por otras causas diferentes a una infección y la sospecha de un cuadro séptico, en la mayoría de los casos, era muy remota.

¹ Mediciones de F_n en el Anexo 4

² Ecuación : Casos (Contraste= -1); Controles Sanos (Contraste= +0.33); Controles Fiebres Aisladas(Contraste= +0.33); Controles de Patología Variada(Contraste= +0.33)

SPSS 1. COMPARACIONES MULTIPLES ENTRE PRIMERA EXTRACCION EN CASOS Y CONTROLES

Test de Comparaciones Múltiples: Prueba de Bonferroni con un nivel de significación de 0.05

La diferencia entre dos medias es significativa si:

$$\text{MEDIA(J)-MEDIA(I)} \geq 58.7069 * \text{RANGO} * \text{RAIZ CUADRADA}(1/\text{N(I)} + 1/\text{N(J)})$$

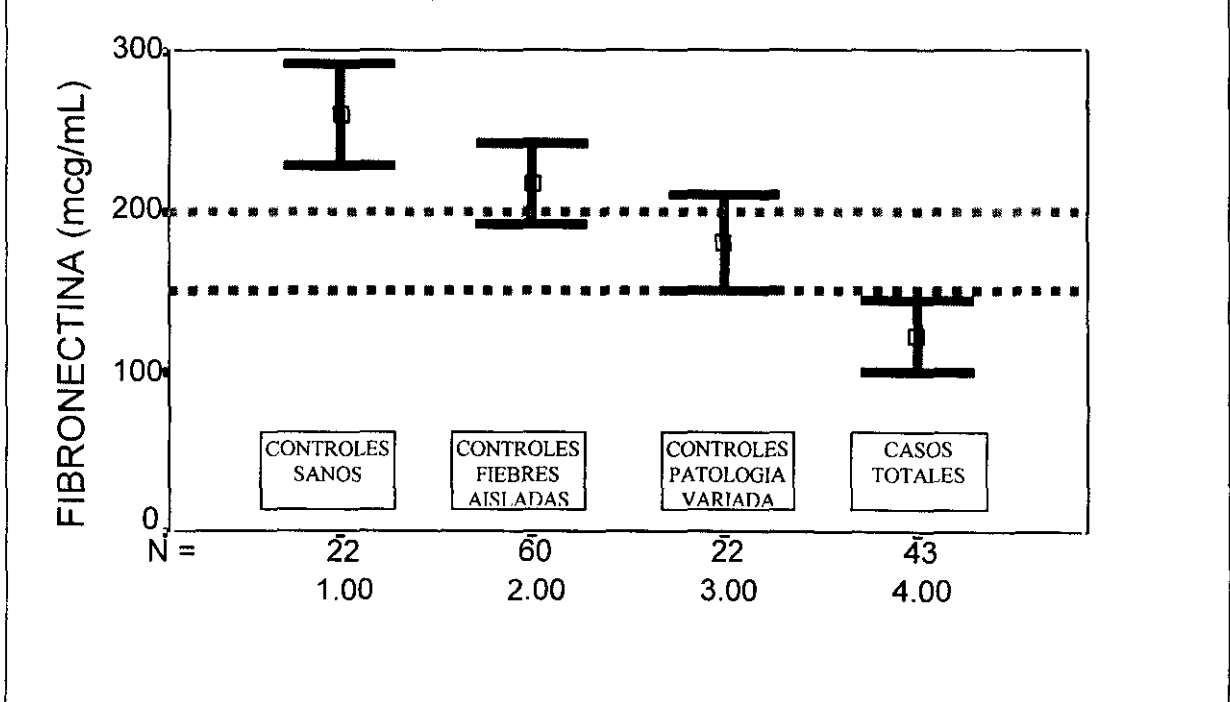
con el siguiente valor para el RANGO: 3.78

(*) Indica diferencia significativa que se muestran en el triángulo inferior

			G G G G
			r r r r
			p p p p
			1 2 3 4
	Media de Fn (µg/mL)		
CONTROLES SANOS	260.5909	Grp 1	
FIEBRES AISLADAS	218.1667	Grp 2	
PATOLOGIA VARIADA	181.0000	Grp 3	*
CASOS TOTALES	122.1163	Grp 4	* * *

En el Gráfico 7 representamos la media y el intervalo de confianza del 95% para la media de cada uno de los grupos de Controles y Casos.

Gráfico 7. PRIMERA EXTRACCION EN CASOS Y CONTROLES. Las barras verticales representan el Intervalo de Confianza del 95% de la media en los diferentes grupos de Casos y Controles. Las líneas horizontales corresponden a los dos puntos de corte. N: Tamaño de muestra.



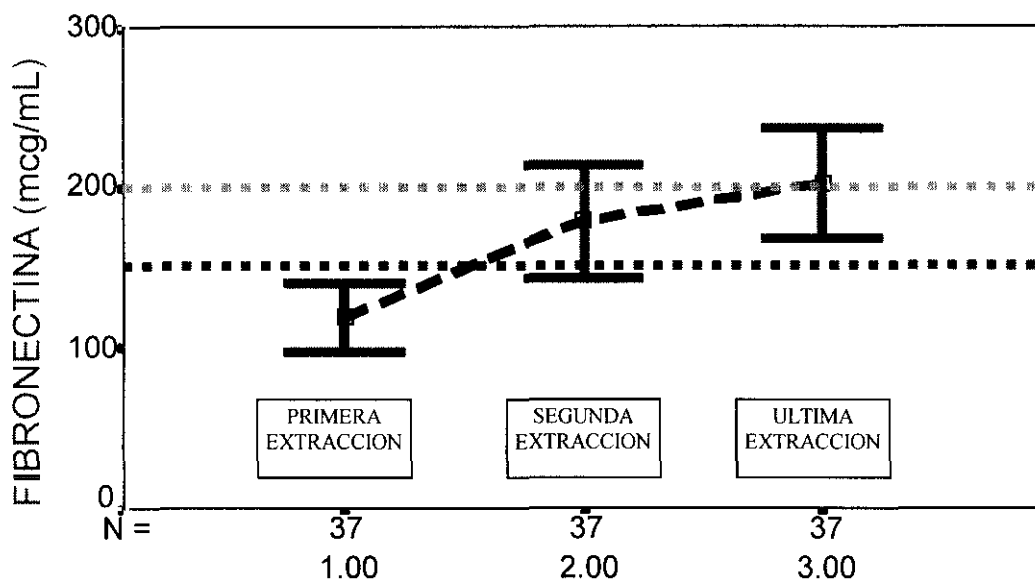
RESULTADOS

En la tabla 14 se reflejan los datos estadísticos de todos los grupos que forman parte de la comparación.

Tabla 14. Descripción estadística de la PRIMERA EXTRACCION EN CASOS Y CONTROLES

	CONTROLES SANOS	CONTROLES FIEBRES AISLADAS	CONTROLES PATOLOGIA VARIADA	CASOS TOTALES
Grupo	Grp 1.00	Grp 2.00	Grp 3.00	Grp 4.00
Número	22	60	22	43
Media	260.59	218.17	181.00	122.12
Desviación Estándar	70.79	97.79	67.59	72.43
Error Estándar	15.09	12.62	14.41	11.05
Int Conf 95 % para la Media	229.21 a 291.98	192.91 a 243.43	151.03 a 210.97	99.82 a 144.41
Mínimo	135.00	80.00	76.00	80.00
Máximo	390.00	348.00	498.00	414.00

Gráfico 8. PRIMERA, SEGUNDA Y ULTIMA EXTRACCION EN CASOS DADOS DE ALTA. Las barras verticales representan el Intervalo de Confianza del 95% de la media en las diferentes extracciones realizadas a los Casos dados de Alta (Primera, Segunda y Ultima). N: Tamaño de muestra.



En la Tabla 15 presentamos un resumen de los datos estadísticos de los grupos:

Tabla 15. Descripción estadística de los grupos PRIMERA, SEGUNDA Y ULTIMA EXTRACCION EN LOS CASOS DADOS DE ALTA.

	<i>PRIMERA EXTRACCION</i>	<i>SEGUNDA EXTRACCION</i>	<i>ULTIMA EXTRACCION</i>
<i>Grupo</i>	Grp 1.00	Grp 2.00	Grp 3.00
<i>Número</i>	37	37	37
<i>Media</i>	118.57	178.81	202.38
<i>Desviación Estándar</i>	64.93	107.18	103.43
<i>Error Estándar</i>	10.68	17.62	17.00
<i>Int Conf 95% para la Media</i>	96.92 a 140.22	143.08 a 214.55	167.89 a 236.86
<i>Mínimo</i>	80.00	80.00	80.00
<i>Máximo</i>	414.00	520.00	510.00

5.2. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE F_n SEGUN EL AISLAMIENTO MICROBIOLOGICO EN LOS PACIENTES DADOS DE ALTA

Otro aspecto importante en la detección precoz de la sepsis, es conocer si el comportamiento de la F_n es inespecífico, es decir, la evolución de los niveles es independiente del tipo de microorganismo responsable del cuadro: ya sea un aislamiento grampositivo, gramnegativo o no exista crecimiento microbiológico. Para ello, el tratamiento estadístico empleado es el test de Bonferroni de comparaciones múltiples del sistema SPSS. Comparamos los datos de F_n obtenidos en los tres tipos de resultados microbiológicos, en cada una de las extracciones (primera, segunda y última) realizadas a los pacientes dados de alta. Este test no detecta ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los tres tipos de resultados obtenidos en los cultivos.

SPSS 3. COMPARACIONES MULTIPLES ENTRE LOS DISTINTOS RESULTADOS DE CULTIVOS EN LOS PACIENTES DADOS DE ALTA.

PRIMERA EXTRACCION DE F_n

Prueba de Comparaciones Múltiples: Prueba de Bonferroni con un nivel de significación de 0.05

La diferencia entre dos medias es significativa si

$MEDIA(J)-MEDIA(I) \geq 44.7142 * RANGO * RAIZ CUADRADA de (1/N(I) + 1/N(J))$
con el siguiente valor para el RANGO: 3.56

- Ningún grupo de dos muestra diferencia significativa con un nivel de significación de 0.05

SEGUNDA EXTRACCION DE F_n

Prueba de Comparaciones Múltiples: Prueba de Bonferroni con un nivel de significación de 0.05

La diferencia entre dos medias es significativa si

$MEDIA(J)-MEDIA(I) \geq 76.2171 * RANGO * RAIZ CUADRADA de (1/N(I) + 1/N(J))$
con el siguiente valor para el RANGO: 3.56

- Ningún grupo de dos muestra diferencia significativa con un nivel de significación de 0.05

TERCERA EXTRACCION DE F_n

Prueba de Comparaciones Múltiples: Prueba de Bonferroni con un nivel de significación de 0.05

La diferencia entre dos medias es significativa si

$MEDIA(J)-MEDIA(I) \geq 74.5130 * RANGO * RAIZ CUADRADA de (1/N(I) + 1/N(J))$
con el siguiente valor para el RANGO: 3.56

(*)Indica diferencia significativa que se muestran en el triángulo inferior

- Ningún grupo de dos muestra diferencia significativa con un nivel de significación de 0.05

Tabla 16. PRIMERA EXTRACCION DE F_{10} EN FUNCION DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO EN LOS CASOS DADOS DE ALTA.

	CULTIVO NEGATIVO	 AISLAMIENTO GRAMPOSITIVO	 AISLAMIENTO GRAMNEGATIVO
<i>Grupo</i>	Grp 1.00	Grp 2.00	Grp 3.00
<i>Número</i>	15	10	12
<i>Media</i>	102.13	107.60	148.25
<i>Desviación Estándar</i>	25.66	53.03	96.03
<i>Error Estándar</i>	6.63	16.77	27.72
<i>Int Conf 95 % para la Media</i>	87.92 a 116.34	69.67 a 145.53	87.24 a 209.26
<i>Mínimo</i>	80.00	80.00	80.00
<i>Máximo</i>	158.00	254.00	414.00

SEGUNDA EXTRACCION DE F_{10} EN FUNCION DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO EN LOS CASOS DADOS DE ALTA.

	CULTIVO NEGATIVO	 AISLAMIENTO GRAMPOSITIVO	 AISLAMIENTO GRAMNEGATIVO
<i>Grupo</i>	Grp 1.00	Grp 2.00	Grp 3.00
<i>Número</i>	15	10	12
<i>Media</i>	148.40	226.80	181.00
<i>Desviación Estándar</i>	87.62	149.53	88.58
<i>Error Estándar</i>	22.62	47.29	25.57
<i>Int Conf 95 % para la Media</i>	99.88 a 196.92	119.83 a 333.77	124.72 a 237.28
<i>Mínimo</i>	80.00	80.00	80.00
<i>Máximo</i>	357.00	520.00	520.00

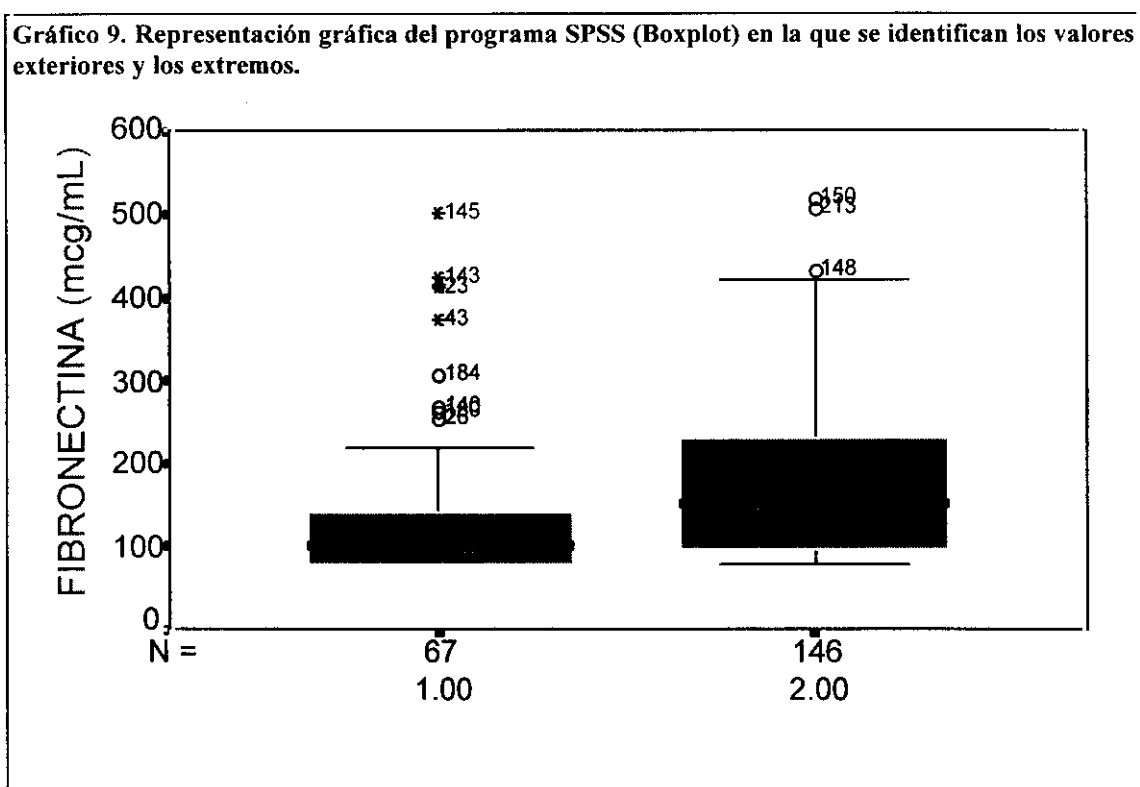
TERCERA EXTRACCION DE F_{10} EN FUNCION DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO EN LOS CASOS DADOS DE ALTA.

	CULTIVO NEGATIVO	 AISLAMIENTO GRAMPOSITIVO	 AISLAMIENTO GRAMNEGATIVO
<i>Grupo</i>	Grp 1.00	Grp 2.00	Grp 3.00
<i>Número</i>	15	10	12
<i>Media</i>	198.07	242.80	178.25
<i>Desviación Estándar</i>	96.54	125.61	97.73
<i>Error Estándar</i>	24.93	39.72	28.21
<i>Int Conf 95 % para la Media</i>	144.60 a 251.53	152.94 a 332.66	116.16 a 240.35
<i>Mínimo</i>	80.00	80.00	80.00
<i>Máximo</i>	357.00	520.00	388.00

6. DETECCIÓN DE VALORES FUERA DE RANGO

Mediante el procedimiento *Explore* del programa estadístico SPSS conseguimos una gráfica denominada Boxplot donde se representan los valores que se salen fuera del rango esperado. Con un círculo se señalan los valores *outlier* —exteriores— y con un asterisco los valores *extreme* —alejados—).

Dividimos los datos en dos grupos ya que, según establece nuestra hipótesis, los niveles esperados de Fn en la primera toma de los pacientes que mejoran y los valores de todas las tomas de los pacientes que fallecen (grupo 1.00) han de ser distintas (inferiores), al resto de extracciones consecutivas realizadas en casos que consiguen la curación (grupo 2.00).



Se detectan cuatro valores extremos, dos de ellos pertenecientes al caso n° 26 (425 $\mu\text{g/mL}$ y 417 $\mu\text{g/mL}$), uno correspondiente al caso n° 25 (414 $\mu\text{g/mL}$) y el último al caso 37 (376 $\mu\text{g/mL}$). En el grupo 2.00 no se detecta ningún valor extremo.

Resulta llamativo que en los tres casos se aislen microorganismos gramnegativos. Sin embargo, como ya demostramos en los pacientes dados de alta, no existe diferencia en función del aislamiento microbiológico. A continuación analizamos detenidamente los tres casos (Ver Gráfico 10):

* El caso nº 25 es un varón de 80 años diagnosticado de Sepsis cuyo probable origen es el Tracto Urinario. Alcanza un estado de gravedad de Sepsis Severa según los criterios de la ACCP/SCCM. Tras la instauración de tratamiento antibiótico remonta la enfermedad siendo finalmente dado de alta. En este paciente se aisló un *Enterobacter aerogenes* en el hemocultivo.

En cuanto a la evolución de los niveles plasmáticos de Fn, el paciente comienza con valores supranormales (414 µg/mL) descendiendo rápidamente a niveles indetectables y así permanece hasta que es dado de alta.

* El caso nº 26 es un varón de 73 años, diagnosticado de perforación gástrica con pericarditis. El origen probable de infección fue el Tracto Gastro-Intestinal. Su estadio de gravedad fue de FMO. El paciente falleció tras mes y medio de seguimiento. En los hemocultivos se aisló una enterobacteria (*E.coli*) y una levadura (*C.tropicalis*).

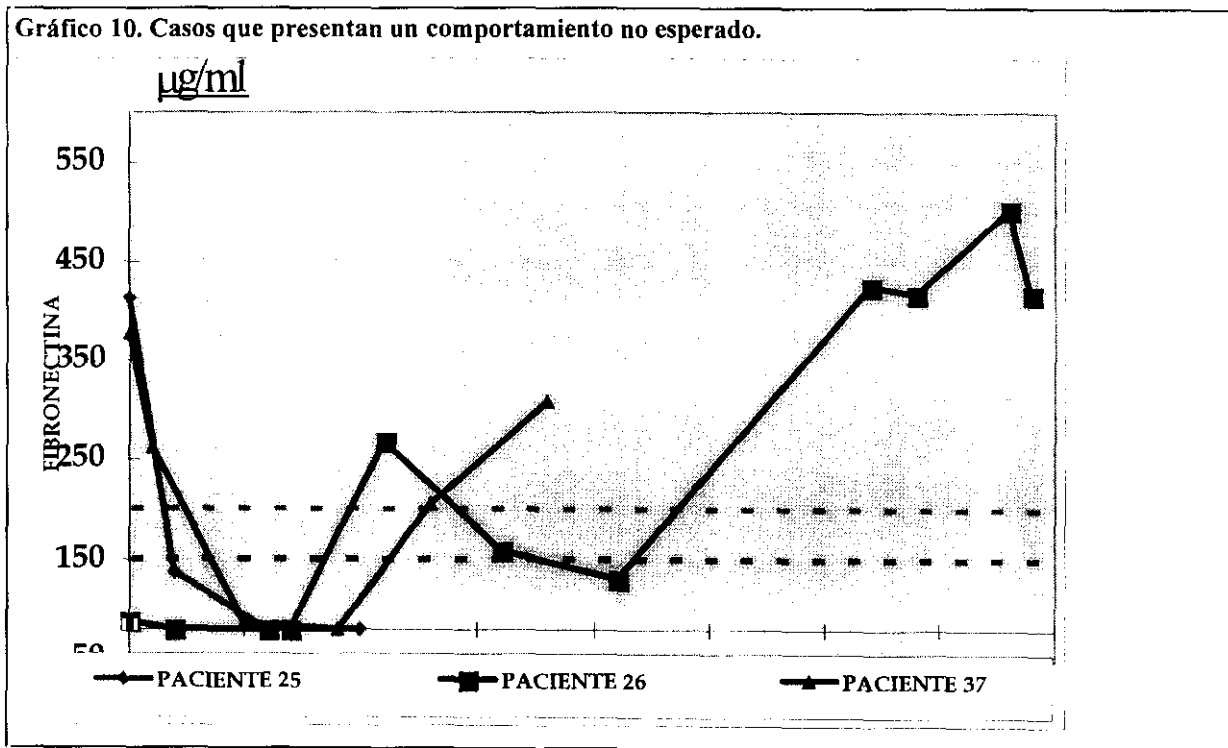
El paciente debuta con valores bajos de Fn que, pasados unos días, van aumentando hasta llegar a valores normales. Posteriormente, sufre una nueva disminución en la concentración que más tarde vuelve a remontar, llegando a alcanzar valores supranormales (425 µg/mL) que mantiene hasta su fallecimiento.

Una posible justificación de los niveles tan elevados de Fn, estaría en que el paciente desarrolló un cuadro de colestasis postoperatoria ya que, según la literatura existente (226), en los casos de colestasis, los niveles de Fn aumentan probablemente debido a un defecto en la eliminación de la misma (acumulación retrógrada) o por un aumento en la síntesis por el estrés a que está sometido el hepatocito.

* El caso nº 37 es otro varón de 63 años diagnosticado de enolismo. El paciente presenta un patrón puro de colestasis. El probable origen de la infección es el Tracto Gastro-Intestinal. Alcanza el estado de gravedad máximo con el fallo de varios órganos. El paciente fallece pasados 18 días de estancia en el hospital. El microorganismo aislado en el hemocultivo fue *E.coli*.

En la primera extracción, los niveles de Fn son muy elevados (376 $\mu\text{g/mL}$). Se le extrae una nueva toma de Fn al día siguiente en la que ya se refleja un descenso importante en la concentración (263 $\mu\text{g/mL}$). En la tercera extracción realizada cuatro días después, los niveles ya son muy bajos convirtiéndose en indetectables en la cuarta medición. Pero a partir de este momento, el paciente empieza a remontar la concentración de Fn hasta que muere, siendo la última medición de 310 $\mu\text{g/mL}$. De nuevo, la colestasis podría ser la causa del comportamiento anómalo de los niveles de Fn.

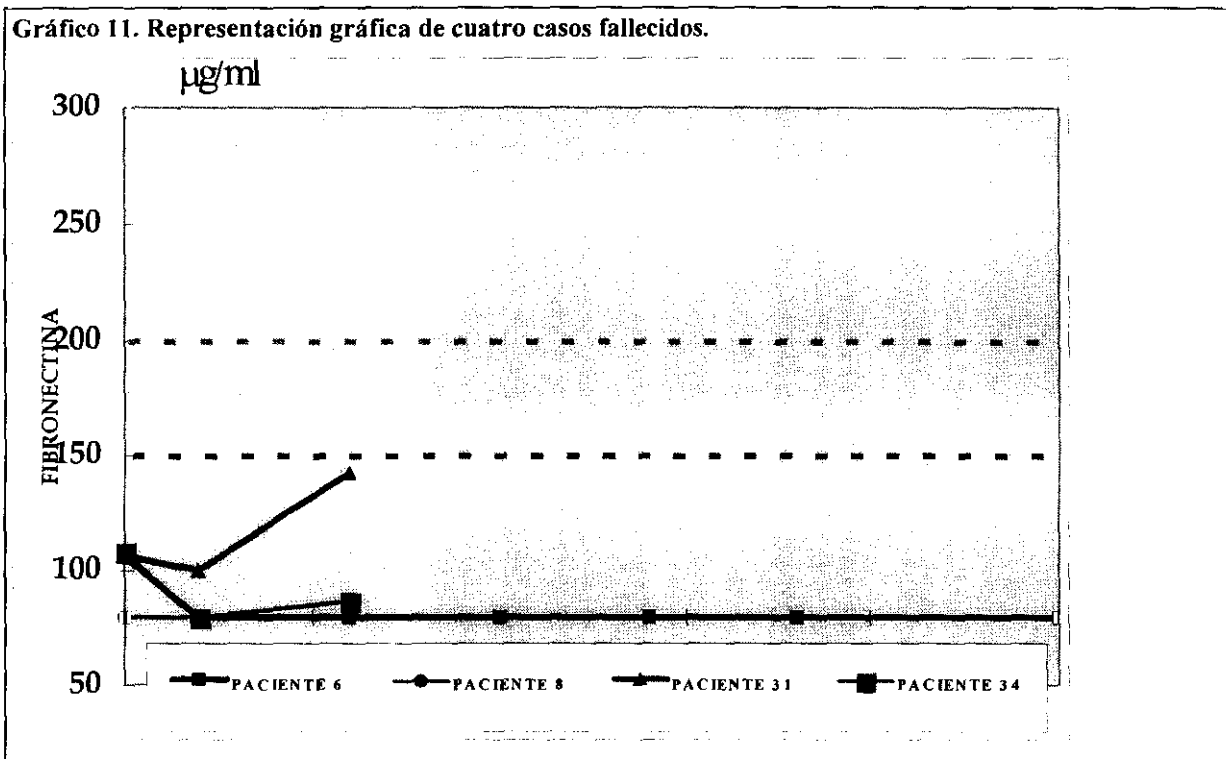
Gráfico 10. Casos que presentan un comportamiento no esperado.



8. COMPORTAMIENTO DE LA Fn EN LOS PACIENTES QUE FALLECIERON

El número de pacientes que no superaron el proceso séptico y murieron es muy pequeño por lo que el tratamiento estadístico descriptivo es desaconsejable. En su lugar, revisamos uno a uno los seis casos. Dos de ellos ya han sido analizados en el apartado anterior (pacientes n° 26 y n° 37).

Como se observa en el Gráfico 11, en estos cuatro pacientes que fallecieron (nº 6, nº 8, nº 31 y nº 34), el comportamiento de la Fn coincide con nuestra hipótesis nula planteada de que los niveles plasmáticos de Fn son bajos mientras el organismo no remonta la etapa crítica de la sepsis.



9. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DEL SCORE

La última parte del trabajo consistió en el cálculo diario del Score de todos los pacientes durante el tiempo que formaron objeto de estudio, tal y como se describió en el capítulo de Material y Métodos.

Si representamos conjuntamente los niveles de Fn y los valores del Score diarios en dos ejes de coordenadas (orden creciente para el eje de la Fn y decreciente para el del Score) en todos los pacientes del estudio, se intuye que puede existir cierta correlación inversa entre ambos.

En un buen número de casos los niveles iniciales de Fn plasmática son muy bajos, aumentando la concentración conforme mejora el estado clínico del paciente, como se puede observar en las gráficas que representan conjuntamente la variación del estado clínico y los niveles de Fn en el tiempo¹.

Para realizar el estudio estadístico propiamente dicho, codificamos la variable Score en cinco categorías ordenadas y la variable Fn en cuatro categorías ordenadas también.

El modelo de codificación es el siguiente:

CODIFICACION DEL SCORE		CODIFICACION DE LA Fn	
<5	0	<100	0
5-9	1	100-149	1
10-14	2	150-199	2
15-19	3	≥ 200	3
≥20	4		

Aplicando la prueba de Mantel-Haenszel para la detección de Tendencia Lineal entre las variables, obtenemos un resultado estadísticamente significativo ($p < 0.007$).

Calculamos, mediante un estudio de correlación, el valor del coeficiente de correlación obteniendo un valor de 0.2 con una significación $p < 0.0069$. A pesar de que existe correlación, el coeficiente de determinación (r^2) es muy bajo 0.04; es decir, la correlación explica sólo el 4% pudiéndose atribuir al azar el resto.

Por último calculamos la ecuación de la recta de correlación obteniendo la siguiente:

$$\text{SCORE (0-4)} = 3.25 - 0.25 \times \text{Fn (0-3)}$$

¹ En el Anexo 5 se encuentran las gráficas de Fn y Score codificados de todos los pacientes en los que pudimos calcular el Score.

Tanto la ordenada en el origen como la pendiente, muestran significación estadística ($p < 0.00005$ y $p < 0.0069$ respectivamente).

Además, confirmamos que la correlación entre el Score y los niveles de Fn plasmática es inversa, ya que la pendiente tiene signo negativo (-0.25).

V. DISCUSSION

La respuesta sistémica del organismo ante una infección es lo que denominamos sepsis.

La sepsis es una patología frecuente de morbilidad y mortalidad que va en aumento, particularmente en pacientes ancianos, inmunocomprometidos y pacientes críticos. Ha demostrado ser la causa más frecuente de muerte en las UCIs de pacientes no coronarios.

El incremento en su incidencia, las nuevas etiologías, y la masiva aparición en determinadas poblaciones de pacientes en las que antes esta patología se presentaba esporádicamente, se ha relacionado con cambios demográficos, con el aumento del uso de antibióticos muy potentes y de amplio espectro que han creado resistencias a los fármacos habitualmente empleados, con la utilización de drogas inmunosupresoras, y con el empleo de técnicas más invasivas en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, infecciosas y neoplásicas.

Las manifestaciones clínicas de la sepsis y del shock séptico son el resultado de la interacción entre los productos bacterianos y los sistemas mediadores del huésped. Cuando la respuesta inflamatoria sistémica es la consecuencia de un proceso infeccioso confirmado, estamos ante un diagnóstico cierto de sepsis.

El diagnóstico clínico de la sepsis, basándose únicamente en los signos clínicos que aparecen en el paciente, es dificultoso en la mayoría de los casos debido a que los síntomas con los que debuta suelen ser poco específicos y muy similares a los que se presentan en multitud de patologías no relacionadas con enfermedades infecciosas. Algunos pacientes pueden desarrollar un cuadro clínico similar (el denominado, y ya explicado en la Introducción, SRIS) como consecuencia de traumatismos, quemaduras, pancreatitis...etc.

El comienzo brusco de un cuadro de sepsis franca con fiebre, escalofríos, taquicardia, taquipnea, cambios en el estado mental e hipotensión, se identifica fácilmente. Sin embargo, durante las primeras fases de la enfermedad y dependiendo de diversos factores del huésped (edades extremas, enfermedades subyacentes, tratamiento con inmunosupresores...etc.), las manifestaciones clínicas pueden ser sutiles y el diagnóstico difícil.

Hace una década, la bacteriemia era normalmente requerida en los estudios de pacientes sépticos para documentar que la infección se encontraba presente. En análisis retrospectivos se ha visto que en algunos casos, a pesar de que los pacientes estaban infectados, todos los resultados de los hemocultivos eran negativos. Esto puede ser debido probablemente al carácter

intermitente de la bacteriemia, a la administración previa de antibióticos o a la presencia de microorganismos delicados o de crecimiento lento. Se estima que la bacteriemia se confirma mediante cultivo tan solo en el 45-48% de los pacientes sépticos⁽⁴⁵⁾.

Los enfermos pueden mostrar manifestaciones de sepsis y de un shock séptico franco, acompañando a una infección localizada importante. En este caso, el diagnóstico y la etiología de la sepsis se confirman al hallar los microorganismos patógenos en la sangre u otros lugares de infección. Aún así, se piensa que uno de cada siete casos de sepsis cursan con todos los cultivos negativos.

El mayor problema que plantea el diagnóstico precoz es que los cultivos suelen tardar unos tres días en crecer y poder aportar alguna información. Además, como ya hemos señalado, en muchos casos no se consigue aislar el microorganismo causante de la infección.

Por lo tanto, para diagnosticar y tratar precozmente una sepsis ha de bastar con que el clínico sospeche de una manera vehemente que el causante de la sintomatología es un agente infeccioso, debiéndose instaurar inmediatamente el tratamiento antibiótico ya que de él depende en buena medida el éxito en la resolución satisfactoria de la enfermedad.

Desde el punto de vista práctico, la respuesta del huésped se enmarca en cuatro categorías (sepsis leve, sepsis severa, shock séptico y fracaso multiorgánico) y puede ser monitorizada con variables bioquímicas, hematológicas y hemodinámicas que constituyen la base de la estratificación pronóstica de los diferentes sistemas de score.

En la patogenia de la sepsis están involucrados diversos mediadores del huésped abarcando a la cascada de las citocinas, las proteínas de fase aguda, los metabolitos activos del complemento y los sistemas de la coagulación, así como factores liberados por las células estimuladas, enzimas, oxidantes de los leucocitos polimorfonucleares, péptidos vasoactivos (p.ej., histamina) y productos del metabolismo del ácido araquidónico.

Las fases que se desarrollan desde el momento en que se produce la lesión en un tejido comienzan con el desprendimiento de los productos bacterianos, los cuales inician la cascada de acontecimientos de naturaleza inflamatoria por la unión a receptores encontrados en los leucocitos mononucleares (monocitos y macrófagos). Esta unión activa a las propias células dañadas y al resto de los leucocitos y, como consecuencia, se produce la liberación de ciertas citocinas entre las que se encuentran las más importantes que son IL-1 y TNF- α . Estas dos

citocinas pasan al torrente circulatorio alcanzando los sitios diana produciendo diferentes acciones como son la modificación en la resistencia y la permeabilidad vascular, el rendimiento cardíaco y la activación de la médula ósea. Otra de sus funciones en el hígado es la de producir las señales necesarias para que los hepatocitos comiencen a sintetizar las proteínas de fase aguda, que son la primera línea de defensa antes de la reacción inmunitaria, actuando como controladores de la difusión de la inflamación.

La determinación de estas proteínas (reactantes de fase aguda) se utiliza para diagnosticar la presencia de una inflamación y monitorizar los cambios durante la actividad inflamatoria. Debido a que muchos procesos diferentes están relacionados con algún tipo de inflamación, la determinación de proteínas de fase aguda en la clínica suele ser muy compleja.

Habitualmente se encuentran dificultades en el conocimiento del pronóstico de los pacientes sépticos en condiciones extremas de gravedad. Cuando el estado clínico está muy comprometido y las variables de laboratorio se presentan muy alteradas, incluso médicos muy experimentados no pueden asegurar cuando la sepsis ha sobrepasado el umbral de curación⁽¹⁷¹⁾.

En los últimos años, se han desarrollado unos índices pronósticos basados en un sistema de puntuación o tanteo conocidos como scores. Estos sistemas nos pueden ayudar para:

- a) El conocimiento objetivo, de una manera más o menos precisa, de la gravedad de la sepsis.
- b) Monitorizar secuencialmente el curso del proceso séptico.
- c) Asignar pacientes sépticos en ensayos clínicos.
- d) Predecir, en un paciente, el riesgo de muerte.

Los scores han sido especialmente útiles en las UCIs quirúrgicas. De hecho, en pacientes críticos es frecuente la dificultad para conocer la gravedad de la sepsis y evaluar las ligeras variaciones que aparecen durante el curso de la enfermedad. Esta limitación obstaculiza el conocimiento acerca de la eficacia de algunos fármacos habitualmente empleados (p.ej., plasma, albúmina, antibióticos) y de nuevas modalidades terapéuticas (p.ej., ventilación artificial, nutrición parenteral, etc.)⁽¹⁷¹⁾.

La mayoría de estos sistemas, se han utilizado para conocer la mortalidad media de las UCIs y tan solo unos pocos se han desarrollado específicamente para la sepsis.

Algunos métodos generales de predicción de riesgos han sido empleados satisfactoriamente en poblaciones sépticas, pero la mayoría se han validado en pacientes con infecciones quirúrgicas en general.

Los sistemas de score utilizados con el fin de predecir la mortalidad han pasado desde correlacionar el índice de mortalidad con el número de órganos que fracasan, hasta sofisticadas técnicas que cuantifican el peso de los datos clínicos y fisiológicos. Posteriormente, estos datos se procesan y se halla el riesgo de mortalidad mediante complejas ecuaciones de regresión logística.

Los primeros scores como el *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE)⁽⁸⁴⁾ o el *Mortality Prediction Method* (MPM)⁽⁸⁵⁾ fueron especialmente diseñados para calcular el riesgo de mortalidad en las UCIs o para estratificar los pacientes, en función de la gravedad, en los ensayos clínicos⁽¹⁷²⁾.

Se han ideado numerosos sistemas de score para casos de sepsis en los últimos 15 años, siendo algunos modificaciones de los previos. La mayoría de estos sistemas se han sometido a validación y unos cuantos han sido reevaluados por otros autores obteniendo resultados variables. Casi todos los estudios han sido realizados en pacientes con infecciones quirúrgicas u otros estados infecciosos no sépticos.

Los scores como el APACHE III, y el *Simplified Acute Physiology Score* (SAPS II)⁽⁸⁶⁾ (ver Anexo 2) se correlacionan bien con el riesgo de muerte de los pacientes ingresados en las UCIs, sin embargo tienen un bajo poder discriminante en pacientes sépticos.

La mayor parte de los scores se fundamentan en hallazgos fisiológicos, anatómicos y clínicos, pero algunos como *The Multiple System Organ Failure*⁽⁸⁹⁾, *Septic Severity Score*⁽⁹⁰⁾, *Multisystem Organ Failure Scoring System*⁽⁹¹⁾ (ver Anexo 2), *Organ disfunction and/or Infection*⁽⁹²⁾, *Acute Organ System Failure*⁽⁹³⁾ y *Multiple Organ Failure*⁽⁴⁸⁾ se basan únicamente en el diagnóstico de fracaso de órganos o la gravedad del fracaso, sin tener en cuenta importantes variables fisiológicas así como posibles enfermedades de base que puedan afectar negativamente al estado del paciente. Además, dentro de los scores que se basan en el fracaso de órganos, no todos utilizan los mismos criterios para el diagnóstico.

Ciertos métodos tienen en cuenta el tipo de infección y el organismo causante como por ejemplo el *Septic Shock Score*⁽⁹⁸⁾.

Otros sistemas desarrollados en pacientes quirúrgicos utilizan evaluaciones subjetivas sobre infecciones locales de tejidos y/o fallos de órganos (p.ej. *Organ Dysfunction and Infection, Grading of Sepsis*^(92,94)). Algunos de ellos, tanto en validaciones externas como en investigaciones internas, han intentado minimizar la subjetividad como el *Grading of Sepsis* o tienen en cuenta el curso clínico de los pacientes en el tiempo, para de este modo aumentar la exactitud en los cálculos (*Mortality Prediction Method*)⁽⁹⁹⁾.

Al aplicar un score como el APACHE III, *Septic Shock Score*, *Organ Dysfunction and Infection*, *Simplified Acute Physiology Score II* (SAPS-II), el nuevo *Multiple System Organ Failure*, y el *Mortality Prediction Model* a un paciente, se obtiene un valor numérico que se transforma en un riesgo de mortalidad, normalmente mediante ecuaciones de regresión logística.

A continuación analizaremos algunos de los trabajos más significativos realizados con scores.

En un estudio prospectivo realizado por Gatell *et al*⁽⁶⁰⁾ se siguieron 543 episodios de bacteriemia nosocomial. Mediante análisis de regresión logística se identificaron las variables independientes que estaban relacionadas con el desenlace final: realizando análisis *univariables* se identificaron 14 factores a tener en cuenta, sin embargo, a través de análisis *multivariables* mediante regresión logística *stepwise*, solo nueve variables mostraron significación estadística. Estos factores fueron: *presencia de shock, enfermedad de base rápidamente fatal, respiración disminuida, infección intra-abdominal o fuente de infección desconocida, edad superior a 70 años, hospitalización en la UCI, infección debida a microorganismos de alto riesgo, presencia de metástasis sépticas, y terapia antimicrobiana inapropiada*. Con los registros de los pacientes en estas variables se desarrolló un modelo logístico para, mediante cálculos matemáticos, poder predecir con antelación el riesgo de fallecimiento. La capacidad de predicción para la supervivencia y la muerte obtenida en esta investigación fue tan solo del 79% y 64% respectivamente.

Hilf *et al*⁽⁶⁴⁾ en un estudio prospectivo estudiaron 200 pacientes con bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa*. Se realizaron análisis estadísticos multivariables para identificar las variables asociadas significativamente a mortalidad en 10 días. Las variables independientes asociadas a una mayor probabilidad de fallecimiento por este análisis fueron: *el uso de terapias*

antimicrobianas con un sólo antibiótico (en lugar de terapias combinadas), fuente de infección respiratoria, y presencia de neutropenia.

Uzun y colegas⁽⁶¹⁾ realizaron un análisis retrospectivo de 448 episodios de bacteriemias por gramnegativos. De nuevo, mediante análisis multivariable, se identificaron la *presencia de shock, fallo multiorganico, identificación de la fuente de infección, servicio hospitalario (quirúrgico o médico), terapia antimicrobiana inadecuada,* y el *lugar de adquisición de la infección (nosocomial o en la comunidad)* como variables independientes asociadas con la mortalidad.

En la mayoría de los trabajos, el *tratamiento antimicrobiano inadecuado, la presencia de enfermedad de base, shock o fallo multiorgánico* y la *identificación de la fuente de infección,* resultaron ser variables estadísticamente asociadas con un incremento de la mortalidad. La presencia de *neutropenia,* cuando se incluía en la evaluación, también resultó significativa en algunos estudios^(64,67,68); este parámetro ha ido perdiendo importancia debido al amplio uso desde 1991 de los factores estimulantes de colonias granulocíticas.

La *terapia antibiótica inadecuada* no es un factor de riesgo que pueda ser identificado al comienzo de la enfermedad, por lo tanto no ha de tenerse en cuenta.

Otros parámetros como *sexo, edad, tipo de microorganismo infectante y temperatura,* solo ocasionalmente fueron asociados con el desenlace final.

Knaus *et al*⁽⁶⁶⁾ ha publicado un nuevo modelo para predecir la mortalidad basado en el APACHE, pero más específico en los casos de mortalidad debida a sepsis. Se han considerado otros factores como son *pH, recuento de células blancas, indicación para la admisión por la UCI, edad y tiempo de estancia* en el hospital y en la UCI, además de los que valora el APACHE III. Su uso más extendido es para la evaluación clínica de nuevos fármacos en la sepsis. El estudio consistió en incluir a todos los pacientes (de los 60.000 que se admitieron en la UCI) que cumpliesen los criterios diagnósticos propuestos por Bone *et al*⁽¹⁷³⁾ para síndrome séptico; en total se admitieron 1.195 pacientes en el estudio. Mediante la técnica estadística de *bootstrapping* se obtuvo un área bajo la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) de 0.76. El modelo también se aplicó al grupo con sepsis por gramnegativos y se consiguió un área bajo la curva ROC de 0.80.

En algunos trabajos publicados⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾ se sugirió que la presencia de *endotoxemia*, especialmente en altas concentraciones, puede correlacionarse con la gravedad de la enfermedad y/o la muerte. Esta asociación se reduce a la sepsis por bacilos gramnegativos y no se encontró en la enfermedad meningocócica. Además, debido a la naturaleza transitoria de las endotoxinas circulantes existe un riesgo de falsos negativos. Por otra parte, dada la gran ubicuidad de las endotoxinas bacterianas, es preciso un manejo especial de las muestras de sangre para evitar los falsos positivos.

Existe multitud de investigaciones realizadas en pacientes diagnosticados de sepsis o shock séptico en los que la proporción de pacientes con niveles detectables de *TNF- α* oscila desde el 26% al 100%⁽⁷²⁻⁷⁷⁾, y en casi todos ellos los investigadores han encontrado una correlación positiva entre *TNF- α* circulante y mortalidad.

En cuanto a los estudios relativos a la *IL-1*, en algunos se describió una correlación positiva entre niveles elevados de la citocina y mortalidad^(76,78,79), pero en otros no se detectó esta correlación o incluso existía una asociación negativa^(73,75,77).

En el trabajo realizado por Calandra *et al*⁽⁶³⁾ mientras que la detección de *IL-1* y *TNF- α* estaban asociadas independientemente a un peor pronóstico, el análisis de regresión *stepwise* no confirmó esta asociación y, sin embargo, las variables *gravedad de una enfermedad de base, edad, bacteriemia, diuresis y pH arterial* si mostraron asociación significativa.

En lo que respecta a la citocina *IL-6*, en la mayor parte de las investigaciones se ha demostrado una correlación entre niveles elevados de esta citocina y mortalidad^(63,69,71,77,78,80,81,82).

Finalmente Casey *et al*⁽⁸³⁾ observaron conjuntamente la contribución de cada uno de los moduladores de la sepsis: *endotoxina, IL-1, TNF e IL-6* y propusieron un nuevo score a partir de los datos obtenidos en 97 pacientes sépticos. No se halló relación significativa entre mortalidad y niveles altos de endotoxina o *TNF*, mientras que niveles elevados de *IL-1* y de *IL-6* si se correlacionaban con la mortalidad. Sin embargo, cuando las cuatro medidas se combinaban en el score, se observó una relación significativa entre la puntuación elevada de éste y la mortalidad.

En la Tabla 17 se analizan 19 sistemas de score, la población en la que se estudiaron y si fueron validados.

Los métodos derivados y validados en pacientes quirúrgicos como son el original *Multiple System Organ Failure*⁽⁹¹⁾, *Septic Severity Score*⁽⁹⁰⁾, *Grading of Sepsis*⁽⁹⁴⁾, *Peritonitis Index Altona*⁽⁹⁵⁾, *Surgical Infection Stratification*⁽⁶²⁾, *Multiple Organ Failure*⁽⁴⁸⁾, *Organ Dysfunction and/or Infection*⁽⁹²⁾, *Outcome Predictive Score*⁽⁹⁶⁾, no pueden ser aplicados a pacientes no quirúrgicos con sepsis ya que el proceso quirúrgico en sí mismo, la respuesta inflamatoria consiguiente al trauma quirúrgico y la necesidad de realizar procedimientos adicionales para erradicar el foco de infección, contribuyen de manera importante al estado clínico general y al posterior desenlace final⁽⁹⁷⁾. Por lo tanto, el empleo en enfermos no quirúrgicos de los métodos diseñados para pacientes operados puede producir confusión por la ausencia de estos factores de riesgo adicionales.

Sin embargo el sistema APACHE II a pesar de ser diseñado en pacientes críticos independientemente del tipo de enfermedad, ha sido validado satisfactoriamente en diferentes estudios con pacientes quirúrgicos⁽⁸⁷⁾. El hecho de que este método sea fidedigno, objetivo, compuesto por información independiente de los criterios diagnósticos y del tratamiento, permite que el Joint Working Party of the Surgical Infection Society for North America and Europe adopten el APACHE II como el sistema de score preferido en las infecciones intra-abdominales (215).

Una de las validaciones más convincentes del APACHE se encontró al evaluar el *Acute Physiology Score* (APS) en combinación con una clasificación anatómica⁽⁶²⁾. El análisis univariable demostró que el APS, la *edad*, la *malnutrición*, la *diabetes*, y el *shock en el primer día* estaban relacionadas de manera significativa con el desenlace final. Sin embargo, el análisis multivariable reveló que sólo la *edad*, la *malnutrición* y, especialmente el APS mantenían la significación estadística.

Tan solo dos de los scores han sido validados en pacientes diagnosticados de sepsis^(98,89), el resto de estudios de validación se han producido en pacientes con infecciones intra-abdominales, shock séptico o en una gran variedad de diagnósticos de infección.

Algunas tentativas de validación externa son dignas de mención como la de Dominioni *et al*⁽¹⁰⁾ (63) que diseñaron una variante en el sistema *Grading of Sepsis*⁽⁹⁴⁾ (59). Esta modificación añadía la medición de las proteínas de fase aguda (α_1 -*glicoproteína ácida*, α_1 -*antitripsina*, y los factores B, C₃ y C_{3a} del complemento). Aunque en los supervivientes existían aumentos

Tabla 17. Ejemplos de validación de Scores..

Ref	Año	Nombre	Componentes	Población	Validación externa	Comentarios
91	1980	Multisystem Organ Failure Scoring System (MSOF)	Escala de 0-4 basada en el número de órganos que fallan	UCI quirúrgica	Si; en pacientes con shock séptico; error al predecir el desenlace final; los pacientes eran de UCIs médicas y hubo que modificarlo ⁽⁴⁶⁾	Se encuentra entre los sistemas más fáciles, pero no tenía en cuenta la gravedad del fallo del órgano.
174	1981	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE)	Escala de 0-124 que reúne la suma de los puntos (de 0 a 4) de cada una de las 34 variables fisiológicas obtenidas durante el primer día de estancia en la UCI	UCI	Si; en pacientes quirúrgicos; también fue modificado con otros factores predictivos ⁽⁴²⁾	Primer intento de utilizar las variables fisiológicas; refinado en el APACHE II y III
90	1983	Septic Severity Score (SSS)	Escala de 0-75 que reúne la severidad de 7 fallos de órganos, cada uno valorado de 0-5; el valor final se calcula elevando al cuadrado los valores y añadiendo los tres más elevados	Sepsis quirúrgicas	Si; SSS se comparó con APS en pacientes con infección intrabdominal ⁽¹⁷⁵⁾ . El SSS modificado se correlacionaba bien con el APS y ambos a su vez con el resultado final	Asignando al valor >40 como punto de corte predictor de muerte, se consigue una precisión para el SSS del 77%.
176	1983	Simplified Acute Physiology Score (SAPS)	Escala de 0-56 que comprende la suma de los puntos (0-4) de 14 variables clínicas y biológicas	UCI	Si; se mejoró la capacidad predictiva con el SAPS-II (European and North American Study of Severity Systems) y fue validado en 13.000 pacientes ⁽⁸⁶⁾	El original se correlacionaba bien con la mortalidad. El SAPS II predice el riesgo de muerte; éste va de 0-182 puntos, con 12 variables agudas y 4 crónicas ⁽⁸⁶⁾
177	1983	Therapeutic Intervention Scoring System (TISS)	Escala de 1-4 para cada una de las intervenciones terapéuticas; los pacientes se clasificaban en 4 clases, para, en función de la gravedad, asignarle los cuidados necesarios	UCI	Si; se comparó con el APS y se encontró que era útil para asignar el riesgo de mortalidad ⁽¹⁷⁸⁾	Al principio se empleó para determinar la distribución de recursos y también para conocer la gravedad de la enfermedad ⁽¹⁷⁹⁾ . No ha sido probada en sepsis
94	1983	Grading of sepsis (Sepsis Score, SS)	Escala de 0-45 donde se evalúa 4 categorías; efectos locales de la infección de tejidos, temperatura oral, disfunción de órganos y datos de laboratorio	Sepsis quirúrgicas	Si; validado en 135 pacientes con gran variedad de infecciones ⁽¹⁷¹⁾ . Si asignamos 20 como punto de corte, obtenemos una precisión del 84%. La validación falló en pacientes con shock séptico ⁽¹⁸⁰⁾ .	Se tenía en cuenta el fracaso de órganos y los efectos locales de la infección, basados en valoraciones subjetivas

Tabla 17.(continuación)

Ref	Año	Nombre	Componentes	Población	Validación externa	Comentarios
95	1983	Peritonitis Index Altona (PIA)	Se puntúa la edad, la magnitud de la infección, enfermedad de base, riesgos cardiovasculares y leucopenia	Infección intra-abdominal	No	Publicación original en Aleman
62	1984	Surgical Infection Stratification (SIS)	Combinación de las 34 variables fisiológicas del APACHE junto a una clasificación anatómica según el origen de la infección intra-abdominal	Infección intra-abdominal	Si; en un estudio multicéntrico en 187 pacientes se encontró buena correlación entre el aumento del score y la mortalidad ⁽⁶²⁾	A pesar de identificar la edad, shock, etc, como variables importantes, las variables fisiológicas del APACHE se correlacionan mejor, incluso sin clasificación anatómica
181	1985	Acute Physiology, Age, and Chronic Health Evaluation (APACHE)	Reduccion del nº de variables fisiológicas del APACHE de 34 a 12. La edad y la valoración del estado de salud crónico se mantuvieron	UCI	Si; muchos estudios han utilizado el APS, y el APACHE II completo; resultados dispares	La correlacion entre el score y el resultado es menos preciso en pacientes con shock séptico
48	1985	Multiorgan Failure Scoring System (MOF)	Escala de 0 a 14 que comprende la severidad del fallo de 7 órganos (0,1,2)	UCI, MOF	Si; validado en 71 pacientes con shock séptico. Pero existía una zona de solapamiento donde no distingue entre los muertos y los supervivientes ⁽¹⁸⁰⁾	Elevada frecuencia en la predicción de muertes que posteriormente no se produjeron
93	1985	Acute Organ System Failure Scoring System (OSF)	Escala de 0-3 dependiendo del número de órganos que fallan	UCI, MOF	Si; validado en 71 pacientes con shock séptico. 3 puntos se asocia con el 91% de mortalidad, mientras que el 43-45% de mortalidad para scores de 0-2 ⁽¹⁸⁰⁾	Fácil de usar, pero la información que aporta es poco precisa
85	1985	Mortality Prediction Model (MPM)	Score generado con datos clínicos y fisiológicos más la historia medica que se transforman automáticamente en probabilidad de muerte por un programa de ordenador	UCI	Si; falló en la discriminación de 71 pacientes con shock séptico entre supervivientes y fallecidos ⁽¹⁸⁰⁾	Se aumentó la precisión del 77 al 80% al hacer un seguimiento de los scores en el tiempo ⁽⁹⁹⁾

Tabla 17.(continuación)

Ref	Año	Nombre	Componentes	Población	Validación externa	Comentarios
182	1986	Mannheim Peritonitis Score (MPS)	Escala de 0-46 que comprende edad, sexo, fallo de órganos, cancer, duración de la enfermedad, foco de infección, diseminación y características del líquido peritoneal	Peritonitis	No; pero se consiguió una precisión del 92% con el valor del score de 29	Uso exclusivo en infecciones intra-abdominales
96	1988	Outcome Predictive Score (OPS)	Combinación entre el Injury Severity Score (ISS), grado de contaminación bacteriana al inicio, y expresión del antígeno-DR en monocitos	Sépsis post-traumática	No; pero buena discriminación entre muertos, infección grave y curación	Superposición considerable entre las categorías; el score de 150 da una precisión del 90%
84	1991	APACHE III	Escala de 0-299 formado por APS (0-252), valoración de la enfermedad crónica (0-23) y edad (0-24).	UCI	Si; validado en 17.000 pacientes de UCI. Una modificación que empleó además lugar donde se trató al paciente previo a la UCI y etiología de la sepsis, falló en la distinción entre pacientes con sepsis y sin ella ⁽⁶⁵⁾	Scores superiores a 120 tienen una precisión del 90% en la predicción de muerte. No es específica para sepsis. Necesita cálculos por ordenador
98	1992	Septic Shock Scores (simplified and complete)	Escala de 0-23 (simple) o 0-37 (completa); formada por parámetros biológicos, clínicos y hemodinámicos. El score completo añade datos 12-24 horas después del ingreso; enfermedad de base y tipo de infección	Shock séptico	No; pero los datos que originaron el modelo, empleados de manera prospectiva sirvieron para la validación	Util sólo en shock séptico; mayor poder predictivo que el APS o el APACHE II
92	1993	Organ Dysfunctions and/or Infection (ODIN)	Compuesto por la presencia o ausencia de fracaso de 7 órganos más infección. El riesgo de mortalidad se calcula mediante una ecuación de regresión logística	UCI, MOF	No; validación propia en 1.070 pacientes con una precisión del 84%	Fue comparado con el SAPS y el APACHE II y la sensibilidad y especificidad eran similares. No resultó útil para calcular el riesgo de muerte en cada paciente
89	1993	Multiple System Organ Failure Scoring System (MSOF)	Modelo de regresión logística que emplea la edad y el fallo en 7 órganos como covariables en el cálculo del riesgo de muerte	Síndrome séptico	No; validación propia con 154 pacientes con síndrome séptico	Sensibilidad y especificidad del 51 y 87% respectivamente. Precisión del 75% en la predicción del riesgo de muerte individualmente

considerables de todas las proteínas de fase aguda, la inclusión de estas mediciones mejoraba la exactitud en las predicciones de mortalidad desde el 84% hasta el 87%.

Lemeshow *et al*⁽⁹⁹⁾ compararon tres métodos para la predicción de la mortalidad en las UCIs: su propio sistema –el *Mortality Prediction Model*–, el *APS*, y el *Simplified Acute Physiology Score*. Este estudio no se realizó exclusivamente en pacientes sépticos pero muchos de los casos presentaban esta patología. Los resultados mostraron que los tres tenían una precisión muy similar, aproximadamente del 86%, sin embargo el *APS* tenía tendencia a sobreestimar y el *Simplified Acute Physiology Score* a subestimar la mortalidad.

Otro trabajo es el llevado a cabo por Arregui *et al*⁽¹⁸⁰⁾ en el cual aplicaron seis métodos (*Multiple Organ Failure*, *Organ System Failure*, *Mortality Prediction Model*, *Grading of Sepsis*, *APACHE II* y el *Multiple System Failure original*) de manera retrospectiva a los datos de 71 pacientes con shock séptico tratados en las UCIs de tres hospitales diferentes. Se utilizó una definición muy rigurosa de shock séptico. Los scores debieron someterse a ciertas modificaciones para poder ser aplicadas a sus pacientes. En los resultados se detectaron ciertas diferencias entre los tres hospitales en cuanto al riesgo de mortalidad, pero tres de los sistemas de score mostraron una elevada capacidad de predicción de mortalidad: el *Multiple Organ Failure System*, el *APACHE II* y el *Acute Organ System Failure Method*.

Knaus *et al* presentaron una evaluación del *APACHE III* añadiendo las variables adicionales de etiología de la sepsis y haber recibido *tratamiento previo al ingreso en la UCI*⁽⁶⁵⁾ (216). Se realizó un análisis estadístico multivariable de los datos de 519 pacientes con diagnóstico clínico de sepsis en 40 hospitales de Estados Unidos. Las tres variables independientes mostraron relación estadísticamente significativa con el riesgo de mortalidad en análisis de regresión logística. Cuando se aplicó este modelo a los pacientes clasificados en dos grupos (los que cumplían criterios de Síndrome Séptico y los que no) el riesgo de mortalidad de los dos grupos era muy parecido.

Los métodos *Organ Dysfunction and Infection*, y el *Septic Shock Scoring System* (Simplificado y Completo) requieren atención especial, para ello analizaremos dos estudios realizados^(92,98).

En el *Septic Shock Scoring System*, los puntos se asignan a cada variable clínica o de laboratorio siempre y cuando esté asociada, observando los índices de mortalidad: de 0 a 49% (0

puntos), 50 a 74% (1 punto), y mayor de 75% (2 puntos). La media de los valores, tanto para el Simplificado como para el Completo, fue bastante más alta en los pacientes que murieron (6.5 +/- 2.3 y 8.4 +/- 2.6) que en los que sobrevivieron (2.5 +/- 1.7 y 3.1 +/- 1.4), respectivamente ($p < 0.0001$). El valor de 5 en el score tiene una sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo entre 89 y 91%. Se encontró una ecuación de regresión logística con gran capacidad de predicción de muerte, sobre todo cuando el score es elevado. Pero cuando el score va desde 0 a 8 puntos⁽⁹⁸⁾ es relativamente impreciso. Tal vez en los pacientes menos graves, con un riesgo de muerte inferior al 50%, se necesite emplear algún otro método adicional que los distinga mejor. Estos scores demostraron tener valores predictivos más altos que el APACHE II o el SAPS⁽¹⁷⁶⁾ en pacientes sépticos.

El *Organ Dysfunction and Infection* es una versión que recopila todos los métodos basados en fracasos de órganos⁽⁹²⁾. Se tabula la presencia o ausencia de deficiente funcionamiento de uno a seis órganos: respiratorio, cardiovascular, renal, neurológico, hepático, y hematológico, y/o infección. Con la validación realizada a 1.070 pacientes se obtuvo una ecuación de regresión logística que asignaba el valor (peso) a cada diagnóstico. Como en otros métodos, el coeficiente de determinación conseguido, entre la mortalidad esperada y la observada, en la población total es muy elevado $r^2 = 0.98$. Sin embargo cuando se realiza un análisis individual caso a caso el coeficiente de determinación r^2 es sólo de 0.27.

En un estudio realizado con el *Multiple System Organ Failure Scoring System*⁽⁸⁹⁾ examinando la relación entre el valor del score en el primer día del diagnóstico del síndrome séptico y la mortalidad a los 30 días se encontró una gran asociación lineal. Mediante regresión logística, las variables más predictoras de mortalidad fueron por orden de importancia: *fallo hematológico, neurológico, hepático, y cardiovascular*. La capacidad de predicción en pacientes individuales fue del 75% de aciertos. Una limitación al estudio es el número relativamente bajo de pacientes con fracaso en cinco o seis órganos.

Como ya hemos mencionado antes, es conocido que ciertos factores actúan como reactantes de fase aguda (proteína C reactiva, proteína sérica amiloide, α_1 -glicoproteína ácida, α_1 -antitripsina, α_1 -antiquimotripsina, fibrinógeno, haptoglobina, ceruloplasmina, C₃, C₄...etc.). Se ha asociado su incremento con la mayor probabilidad de supervivencia. Se ha postulado frecuentemente que el aumento de los reactantes de fase aguda es el mecanismo de respuesta

beneficioso para lograr la supervivencia y que una defectuosa producción de estos reactantes, tras el establecimiento de una sepsis, indica una respuesta inadecuada por parte del huésped. Esto ha dado lugar al desarrollo de scores que, para cuantificar el estadio de gravedad en la sepsis incorporan (además de variables fisiológicas, hemodinámicas y demográficas) el incremento de los niveles plasmáticos que experimentan estas proteínas de fase aguda en respuesta al daño tisular y a la infección⁽¹⁷¹⁾.

Dado que la Fn es una de las proteínas de fase aguda que están relacionadas con los procesos infecciosos (perteneciente al grupo de reactantes negativos, es decir, que experimentan un descenso en su concentración), se ha especulado mucho sobre su posible utilidad en el diagnóstico precoz de esta patología.

Las funciones principales de la Fn están relacionadas con la defensa del huésped frente a la infección, sirviendo como mediador en la fagocitosis de bacterias por parte de los macrófagos y neutrófilos^(137,138).

La Fn interacciona con los fagocitos en casi todas las etapas de la respuesta inflamatoria sistémica secundaria a la infección⁽¹³⁹⁾, ejerciendo un efecto atrayente principalmente frente a los neutrófilos; posteriormente la acción de las proteasas neutrofilicas dan lugar a la producción de fragmentos de Fn que tienen afinidad para los monocitos. También actúa como un potente quimiotáctico para monocitos y neutrófilos en presencia de ácido hialurónico. Asimismo, favorece la interacción entre las células fagocíticas y las bacterias que han sido opsonizadas por anticuerpos, lo cual aumenta la actividad bactericida de aquellas.

También colabora con el SRE en la eliminación de restos de colágeno, plaquetas dañadas y tejidos necróticos⁽¹⁴⁰⁾.

La Fn celular tiene un papel importante en las interacciones célula-célula⁽¹⁴²⁾.

Otra función fundamental es la de colaboración en el mantenimiento de la integridad vascular y en la curación de heridas debido a las interacciones que se producen entre la Fn de la superficie de los fibroblastos, las mallas de fibrina, el colágeno de la matriz extracelular y el factor XIII promoviendo el proceso de la coagulación sanguínea⁽¹¹⁶⁾.

Se ha propuesto que el contenido en Fn celular está relacionado inversamente con la tumorigenicidad de las células y que la carencia de esta proteína puede ser un factor de malignidad⁽¹¹²⁾. Por otra parte se ha visto que en algunos casos de neoplasias se producen

trastornos en la Fn plasmática y que la administración de Fn *in situ* limita el crecimiento de tumores locales⁽¹⁴⁴⁻¹⁴⁶⁾. Sin embargo, esta relación ha sido cuestionada por ciertos autores⁽¹⁴³⁾.

La Fn tiene fundamentalmente una localización subendotelial; sin embargo también se encuentra ampliamente distribuida en las zonas de unión de las células de manera que, cuando se produce una lesión en los tejidos, la Fn y otras proteínas de la matriz quedan expuestas pudiendo cumplir un papel clave en la adhesión de las bacterias a las paredes vasculares.

Los neutrófilos se adhieren inicialmente a estas áreas expuestas del subendotelio donde está la matriz de Fn celular. Más tarde, estos neutrófilos adheridos al sitio de la inflamación dan lugar a la superproducción (20 veces superior a la normal) de Fn, la liberan y la depositan sobre las superficies que atraviesan. Los monocitos también se unen a los tejidos mediante un receptor que poseen que tiene afinidad hacia una región de la molécula de Fn.

La Fn celular además juega un papel importante en la quimiotaxis de los fagocitos debido al carácter reversible de su unión a ellos y a su relación con elementos del citoesqueleto.

El siguiente paso es la adhesión de los organismos a los fagocitos para ser eliminados. En este punto, la Fn también tiene un papel crucial mediando la unión de determinados gérmenes gracias a que poseen una serie de regiones con elevada afinidad hacia ciertos receptores localizados en los organismos invasores.

Y por último, parece que la Fn puede actuar como moduladora de la acción del sistema del complemento y en concreto en la actividad del receptor para el factor C₃ y Fc favoreciendo su capacidad bactericida⁽¹³⁹⁾.

Se ha visto que la Fn puede estar *disminuída* en determinadas patologías como en casos de *criofibrinogenemia*, CID y en pacientes afectos de distintas *hepatopatías* (cirrosis, hepatitis crónica activa). El descenso de la concentración plasmática de Fn fue mayor en aquellos pacientes que tenían más gravemente afectada la función hepatocelular, sin distinguir la etiología del proceso. En otras situaciones la podemos hallar *aumentada* como ocurre en pacientes con *ictericia obstructiva* debida a carcinomas pancreáticos, en casos de *colestasis extrahepáticas*, *cirrosis biliar primaria*, *síndrome nefrótico*... etc.

En multitud de estudios se ha observado el papel que cumple la Fn como agente de adhesión. En primer lugar se adhiere a los microorganismos gracias a la existencia de zonas con gran afinidad hacia un elevado número de microorganismos patógenos. En segundo lugar, la Fn

tiene la capacidad de unirse a células responsables de su fagocitosis y eliminación, favoreciendo el contacto entre ellos y actuando como mediador en la acción del SRE.

La adhesión de microorganismos a la superficie celular mediada por Fn es muy controvertida.

En general se ha demostrado que la Fn siente más apetencia por los microorganismos grampositivos que por los gramnegativos^(154,163,164), no obstante existen muchas investigaciones que apoyan el que la Fn también es capaz de cumplir su papel mediador cuando el germen responsable de la infección es un gramnegativo⁽¹⁰²⁾.

Se ha visto que cuanto más ricas son las células en Fn insoluble dispuesta sobre la superficie celular, mayor es la adhesión a ellas que experimentan los microorganismos. La correlación es mejor con cepas de bacterias grampositivas que con gramnegativas⁽¹⁶⁴⁾. La adhesión también es dependiente del tiempo y del número de células con el que estemos trabajando⁽¹⁶³⁾.

Sin embargo, al tratar de enriquecer la superficie de tejidos en cultivo con Fn soluble concentrada, el comportamiento difiere entre grampositivos y gramnegativos. Se conseguía favorecer la unión de microorganismos grampositivos^(163,164), pero se inhibía la unión de los gramnegativos de manera dosis dependiente^(160,162,164,183). Asimismo según Woods después de tripsinizar células provenientes de la cavidad oral se promovía la unión de bacilos gramnegativos como *P.aeruginosa*⁽¹⁸⁴⁾, quizá debido a que se eliminación de los impedimentos estéricos que obstaculizaban su adhesión.

La unión de *S.aureus* a Fn o células endoteliales no depende del contenido de la pared celular en proteína A o ácidos teicóicos⁽¹⁶³⁾, más bien parece dependiente de una proteína de la superficie de las bacterias, ya que el tratamiento de la bacterias con proteasas disminuye, de manera importante, la capacidad de adhesión. También se demostró que esta cualidad descende mucho en cepas bacterianas que poseen una cápsula rica en carbohidratos como las cepas M de *S.aureus*.

El pretratamiento de cepas de *S.aureus* con suero o Fn purificada favorece la adhesión a células endoteliales, lo cual sugiere la existencia de interacciones Fn-Fn.

Existe la teoría de que la Fn puede favorecer la colonización diferencial de distintos tejidos por las bacterias al mostrar distinta apetencia hacia ellas; por ejemplo, parece ser que la

Fn plasmática se dispone sobre la superficie de las células epiteliales de la cavidad oral bloqueando la unión de bacilos gramnegativos como *E.coli* o *Pseudomonas aeruginosa* de manera dosis dependiente^(160,162,164,183). Se ha constatado que la eliminación de la Fn de la superficie de células epiteliales de la cavidad oral, que presumiblemente ocurre como resultado de la acción de proteasas secretadas en estados sépticos, promueve la adhesión y colonización por parte de microorganismos gramnegativos del tracto respiratorio superior^(165,185). Por otro lado Vercellotti⁽¹⁶³⁾ también especuló acerca del tropismo observado en los casos de endocarditis y sugirió que la Fn podía estar relacionado con la capacidad de determinadas bacterias para adherirse a las células endoteliales de las válvulas cardíacas; de tal forma que las cepas de *S.aureus* y *S.sanguis*, frecuentemente aisladas en casos de endocarditis, son las que muestran mayor apetencia por este tipo de sustratos, a diferencia de los microorganismos gramnegativos.

En la unión selectiva de microorganismos a los vasos sanguíneos, además de la Fn, otras proteínas de la matriz pueden servir como sustratos, son la laminina o el colágeno tipo IV —glicoproteínas sintetizadas por células endoteliales e incorporadas en sus matrices extracelulares— que también ejercen un papel importante en la adhesión bacteriana⁽¹⁶³⁾.

Es concebible, pues, que la Fn local pueda jugar un importante efecto modulador en la determinación de la ecología de la cavidad orofaríngea y en el establecimiento de procesos infecciosos.

En cuanto al papel que puede tener la Fn plasmática en el diagnóstico y monitorización de estados sépticos se han realizado numerosas investigaciones tanto en modelos animales como en humanos.

En los modelos animales se ha observado que no existe uniformidad en el comportamiento de la Fn. Esto puede ser debido a la variabilidad en las especies estudiadas, a los diferentes métodos de medición de Fn (actividad funcional o inmunorreactividad), al tipo de sepsis o endotoxemia provocada, a variaciones en el tiempo de muestreo...etc. Además, en general, la correlación entre modelos animales y estudios en enfermos humanos es muy limitada. La fase de estudio en modelos animales es muy importante, sin embargo las condiciones de este tipo de investigaciones son relativamente puras, no hayándose influidos por las múltiples variaciones fisiológicas encontradas en los estudios con humanos.

Las concentraciones de Fn plasmática determinadas mediante bioensayo o por métodos inmunorreactivos no se correlacionan entre sí, ni con la actividad biológica *in vivo* esto puede ser debido probablemente a que la Fn puede ser procesada por las proteasas a fragmentos biológicamente inactivos o inhibidores, los cuales mantienen su actividad antigénica *in vitro*⁽¹⁸⁶⁾.

La mayoría de las investigaciones con animales han demostrado que mientras la instauración experimental de una sepsis puede estar asociado con un descenso agudo en las concentraciones de Fn plasmática, este descenso es seguido por un rápido aumento de la concentración de Fn a valores normales en 24 horas o incluso supranormales en 48 horas⁽¹⁸⁷⁾. El “rebote” en las concentración de Fn puede ocurrir, en algunos casos, a pesar del deterioro clínico del animal. Este es un hecho distinto a lo que se ha descrito en la mayoría de los trabajos en pacientes sépticos.

Se han propuesto tres posibles mecanismos rápidos de repleción de la Fn plasmática: uno es la *mobilización* de la Fn preformada unida a la superficie celular, otro sería *modificaciones postranscripcionales de un precursor* de Fn plasmática y por último, el tercer método, sería la *síntesis de novo* por parte de las células responsables.

Velky⁽¹⁸⁷⁾ y Grossman⁽³⁶⁾ en sus estudios cinéticos de Fn en sepsis sugieren que los cambios en la concentración de Fn son más dependientes de cambios en la velocidad de síntesis de Fn que de la velocidad de consumo o destrucción de la Fn.

En un trabajo realizado por Pussell *et al*⁽¹⁸⁸⁾ se estudió la cinética de la Fn usando Fn marcada con un radioisótopo y se demostró que lo que ocurre es más una disminución de la síntesis que un aumento en el catabolismo de la Fn.

Novo y Ais⁽¹⁸⁹⁾ trabajando con ratas a las que se les había inoculado intraperitonealmente una cepa de *E.coli*, provocándolas una peritonitis aguda, observaron que la concentración en Fn plasmática descendía de manera significativa respecto a la determinación basal en una hora. En determinaciones posteriores se mantuvieron niveles bajos hasta la muerte. Por el contrario, en las ratas controles no se observaron cambios en la concentración de Fn respecto a la basal en ningún momento del estudio. En otro trabajo realizado por Ais (Tesis Doctoral) demuestra que en casos de pancreatitis aguda necrohemorrágica provocada mediante técnica laparoscópica en ratas, no existe diferencia significativa en los niveles de Fn plasmática entre el grupo de casos y el grupo de controles⁽¹⁹⁰⁾.

McCafferty y Saba⁽¹⁹¹⁾ encontraron que, en ratas, la inyección intravenosa de *S.aureus* producía un descenso transitorio en la Fn plasmática además de en el factor C₃ del complemento, seguido de un aumento rebote en la Fn pero no en el C₃.

Grossmann y colaboradores⁽¹⁸⁶⁾ observaron que en conejos a los que se les provocaba la reacción generalizada de Shwartzman mediante la administración de dos dosis intravenosas del lipopolisacárido endotóxico de *E.coli* (LPS), y en ratas a las que se les provocaba la formación de abscesos intraabdominales mediante ligación cecal y perforación con el consiguiente desencadenamiento de un estado séptico, aparecía una disminución precoz postoperatoria en los niveles de Fn plasmática, seguida de un aumento significativo por encima de los valores normales, incluso cuando a los animales se les diagnosticara una CID, se encontraran claramente en estado séptico, y fallecieran.

Por el contrario, Velky et al⁽¹⁸⁷⁾ encontraron aumento, más que disminución, en las concentraciones plasmáticas de Fn tras ligación cecal y perforación en ratas.

Estudios realizados en monos con CID relacionada con la Fiebre de las Montañas Rocosas se demostró prolongados descensos en Fn plasmática⁽¹⁹²⁾.

No está claro si las diferencias detectadas son debidas a las especies usadas o al tipo de sepsis provocada, o a otros atributos del modelo empleado.

Establecer la relación entre la concentración de Fn plasmática y las funciones fagocíticas de SRE durante sepsis o endotoxemia ha sido difícil. Loegering y Schneidkraut⁽¹⁹³⁾ observaron que las ratas que recibieron un inóculo con la endotoxina de *E.coli* mostraron disminución de la actividad fagocítica por el RES pero no hubo cambios en las concentraciones de Fn plasmática medidas por bioensayo. Por el contrario la administración de inóculos pequeños de endotoxina (cinco inyecciones diarias) produjeron un aumento en la actividad fagocítica de RES, pero los niveles de Fn (mediante bioensayo) se mantuvieron semejantes a los controles.

De igual manera, Kaplan et al⁽¹⁹⁴⁾ encontraron que los casos de bacteriemias por *E.coli* en ratas se asociaban a una disminución de la actividad fagocítica del RES, mientras que las concentraciones de Fn podían aumentar o no cambiar.

Richardas y Saba⁽¹⁹⁵⁾ observaron que dosis repetidas subletales de la endotoxina de *E.coli* en ratas producían un aumento transitorio en la inmunorreactividad y bioactividad de la Fn

sérica. También detectaron un aumento en la actividad fagocítica del RES después de que los niveles de Fn plasmática hubieran vuelto a la normalidad.

Algunos estudios han investigado el efecto de la deficiencia en Fn o el efecto del tratamiento profiláctico con Fn en la fisiología y el resultado en modelos animales de sepsis o endotoxemia. En este sentido, Kaplan⁽³⁸⁾ demostró que un pequeño número de ratas inoculadas con Fn purificada de rata antes de someterlas a la endotoxemia o bacteriemia experimental con *E.coli* manifestaron un aumento en la supervivencia al compararlo con los controles, pero la diferencia no era significativa.

Aukburg y Kaplan⁽³⁹⁾ encontraron que la terapia profiláctica con Fn de rata no mejoraba la supervivencia en ratas sometidas a ligación cecal o perforación y la consiguiente sepsis intraabdominal.

Lanser y Saba⁽³⁷⁾ observaron que las ratas cuyos niveles de Fn plasmática habían sido reducidos por el tratamiento con un antisuero antifibrinectina, tuvieron un aumento de la mortalidad tras el inóculo con *S.aureus* al compararlo con los controles, a los cuales no se les había deplecionado sus niveles de Fn. En el mismo estudio los animales controles que murieron tuvieron niveles de Fn significativamente más bajos que los animales controles que sobrevivieron. Estos autores también detectaron un aumento eventual en la concentración de Fn plasmática tras la peritonitis experimental y postularon que este incremento representaba una respuesta de adaptación y protección frente a la sepsis.

Lurton *et al*⁽⁴⁰⁾ han demostrado una reducción significativa en la mortalidad (15%) en ratas con peritonitis por *S.typhimurium* que habían sido pretratadas con Fn. Las diferencias en cuanto a mortalidad no llegaron a ser significativas en un modelo de endotoxemia en ratas estudiado por el mismo grupo⁽⁴¹⁾, no pudiendo demostrar mejoría bioquímica⁽⁴²⁾, ni aumento en la actividad fagocítica del RES⁽⁴³⁾ en animales pretratados con Fn.

En cuanto a las investigaciones realizadas en humanos a diferencia de los modelos animales, las sepsis nunca son hallazgos aislados sino que suelen ir acompañados de otras enfermedades de base.

Habitualmente los estudios realizados en humanos se han hecho en poblaciones heterogéneas o en pacientes críticos cuyos problemas, junto con (o como resultado de) la sepsis, incluían otras complicaciones como hemorragias, CID, malnutrición, FMO. Además de las

diferentes definiciones de sepsis utilizadas en los trabajos, los grupos de pacientes estudiados suelen ser muy heterogéneos en cuanto al foco probable de infección, la flora encontrada, tratamiento instaurado, tiempos de extracción, técnica de medición, rango amplio en los valores normales y la falta de definición de concentraciones anormales...etc., lo cual hacen que las comparaciones entre estudios sean difíciles.

La mayoría de las investigaciones en humanos han demostrado que, en situaciones de sepsis la Fn disminuye en los periodos precoces de la enfermedad tanto en los pacientes que se recuperaron como en los que fallecieron.

En estudios de evolución, se ha visto que, en general, los pacientes que superaban el proceso séptico recuperaban los niveles normales de Fn plasmática, a diferencia de lo que ocurría en los que fallecían, que mantenían las bajas concentraciones de Fn hasta el final^(34,137,138,188,196-213).

Koenig, y Patterson⁽²¹⁴⁾ proponen que niveles bajos de Fn, combinado con leucocitosis y un aumento de cayados o formas leucocitarias inmaduras suponen una herramienta útil en el diagnóstico de infecciones bacterianas importantes en niños.

En algunos ensayos clínicos se ha investigado el efecto de la terapia con concentrado de Fn obteniendo resultados muy controvertidos (Tabla 18).

El fallo de la terapia con Fn en pacientes sépticos⁽³⁶⁾, en principio, no nos sorprende ya que gran parte de las interacciones positivas de los macrófagos y neutrófilos con la Fn pueden ocurrir con Fn insoluble de los tejidos y no requiere la presencia de Fn soluble. Por otra parte el hecho de la disparidad de resultados obtenidos en los estudios en cuanto al posible efecto beneficioso de la administración de plasma fresco o crioprecipitado podría explicarse por las diferencias en el tiempo de conservación del crioprecipitado. Según Blumenstock *et al*⁽¹⁴⁷⁾ la actividad opsonínica de la Fn en el crioprecipitado guarda una relación inversa con el tiempo de conservación. Así, la congelación durante dos meses, a pesar de ser a -80°C , ya disminuye su capacidad opsonínica. Los autores que han empleado crioprecipitado de menos de un mes de conservación han obtenido efectos beneficiosos^(30,148).

Para finalizar, pienso que debemos corregir nuestra incapacidad actual para introducir en la práctica clínica nuevos términos celulares y moleculares que traduzcan el caudal ingente de

conocimiento biológico adquirido en la última década sobre los mecanismos básicos de relación microorganismo-huésped.

Tabla 18. Estudios en humanos en los que se empleó la Fn como terapia de sepsis.

AUTOR	N° PAC	TIPO DE PACIENTE	[F1]TRATAMIENTO	RESULTADO		
				CAMBIOS FISIOLOGICOS	SUPERVIVENCIA (%)	
				TRATAMIENTO	CONTROL	
Grossman <i>et al</i> ⁽²⁰⁹⁾	49	UCI, FMO (la mayoría son sépticos)	CP(10 unidades); Repetición <3 veces	Ninguno	26	32*
Lundsgaard- Hansen <i>et al</i> ⁽³⁴⁾	72	Sepsis intraabdominales	Fn purificada humana (0.8g/día); 5 días	No se estudió	73	62†
Stevens <i>et al</i> ⁽¹⁴⁸⁾	31	Sepsis quirúrgicas	CP(10unidades/día) durante 4 días	Ninguno ‡	75	42§
Todd <i>et al</i> ⁽³⁶⁾	78	Sepsis quirúrgicas	CP diario hasta mantener niveles de 280µg/mL	No se estudió	55	63†
Hesselvik <i>et al</i> ⁽³⁵⁾	28	Shock séptico	1.7 µ 1.3 g de Fn (en CP) en 24 horas	Ninguno	86	50†
Brodin <i>et al</i> ⁽²¹⁵⁾	23	LMA	Dosis múltiples de CP		Si efectos clínicos	

* CP = crioprecipitado; Fn = fibronectina; LMA = leucemia mieloide aguda.

†Diferencia no significativa.

‡Aunque los autores describen mejoría en la función hepática, pulmonar y renal, los cambios no son significantes.

§ Diferencia significativa (p < 0.05).

*Diferencia significativa (p = 0.05) a las dos semanas.

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones parciales que podemos definir a partir de los resultados obtenidos en nuestro estudio son:

1ª. La concentración de Fn plasmática es un marcador diagnóstico que refleja el estado clínico del paciente séptico. En efecto los niveles medidos en los *Casos* al comienzo del proceso séptico son inferiores y se diferencian estadísticamente de los obtenidos en el resto de los grupos *Controles*.

2ª. Los niveles de Fn plasmática constituyen un indicador fiable que distingue los sujetos sanos de los enfermos, toda vez que las concentraciones de Fn plasmática obtenidas en los *Controles Sanos* son superiores y se diferencian de manera estadísticamente significativa de los hallados en el grupo de *Casos Sépticos* y de los medidos en el grupo de *Controles de Patología Variada*. También son más elevadas en los sanos que en el grupo *Control Fiebres Aisladas*, aunque en este caso la diferencia no llega a ser estadísticamente significativa.

3ª. La concentración de Fn plasmática es un indicador de evolución. Recomendamos que se realice una segunda medición dos días después del diagnóstico en la que, si el paciente está respondiendo bien al tratamiento, ya encontraremos niveles dentro del rango normal. En nuestro estudio observamos que la concentración de Fn media obtenida en la *primera extracción* de Fn realizada a los *Casos* que fueron *dados de alta*, es estadísticamente inferior a las obtenidas en la *segunda* y *última* extracciones.

4ª. La ausencia de modificación de valores permanentemente bajos es un signo de mal pronóstico toda vez que los niveles medidos en los *Casos que fallecieron* permanecieron disminuídos durante todo el período de estudio, aunque dado el pequeño tamaño de muestra, no fue posible verificarlo estadísticamente.

5ª. **Son suficientes dos mediciones para fijar el criterio indicador** ya que no se detecta diferencia estadísticamente significativa entre la *segunda* y la *última extracción* de Fn plasmática practicadas en los *Casos* que superaron la enfermedad y fueron *dados de alta*.

6ª. **Desde el punto de vista etiológico, el comportamiento de los niveles plasmáticos de Fn en el momento del diagnóstico, fue inespecífico.** No detectamos diferencias estadísticamente significativas independientemente de que se aislase un microorganismo grampositivo, gramnegativo o los cultivos fuesen negativos.

7ª. **Recomendamos el empleo de dos puntos de corte. Un umbral inferior de 150 µg/mL**, por debajo del cual, con una Sensibilidad del 83.72% y una Especificidad del 81.82%, nos seleccionaría los pacientes sépticos del resto de enfermos con otras patologías o individuos sanos. El segundo punto de corte recomendado sería un **umbral superior de 200 µg/mL**, por encima del cual, con una Sensibilidad y Especificidad del 80.00 y 81.82% respectivamente, se encontrarían los sujetos sanos y con valores menores estarían los enfermos en general (sépticos o no).

8ª. **Demostramos la existencia de correlación estadística y de tendencia lineal entre el Score propuesto y la concentración plasmática de Fn.** Tras la codificación de las variables constatamos la existencia de *correlación inversa* entre los valores del *Score* y los *niveles de Fn plasmática*, obteniendo una ecuación de la recta con pendiente negativa.

VII. ANEXOS

DIAGNOSTICO DE FRACASO DE ORGANOS⁽⁵⁵⁾

* *Se diagnostica Fracaso de Un Organó (FUO) si el paciente tiene uno o más de los siguientes signos durante un periodo de 24 horas, FUO existe en ese día.*

** *Se diagnostica Fracaso Multi Orgánico (FMO) cuando se produce el fracaso en más de uno de los sistemas:*

Fallo Cardiovascular. Cuando se cumplen dos o más de los siguientes signos:

- A. Frecuencia cardíaca menor de 54 latidos/minuto.
- B. Presión Arterial Media < 49 mmHg.
- C. Taquicardia Ventricular y/o Fibrilación Ventricular.
- D. pH sérico menor de 7.24 con Pa CO₂ menor de 49mmHg.

Fallo Respiratorio. 2 ó más de:

- A. Frecuencia respiratoria menor de 5/min o mayor de 49/min.
- B. Pa CO₂ mayor de 50 mmHg.
- C. Aa DO₂ mayor de 350 mmHg.
- D. Ventilación mecánica en el 4º día de fallo orgánico (no valen las primeras 72h)

Fallo Renal. 2 ó más de:

- A. Volumen de orina menor de 479 ml/24h ó 159 ml/8h.
- B. BUN sérico mayor de 100mg/100ml.
- C. Creatinina sérica mayor de 3.5 mg/100ml.

Fallo Hematológico. 2 ó más de :

- A. WBC menor de 1000/mm³
- B. Hematocrito menor de 20%.
- C. Plaquetas menor de 20.000/mm³.

Fallo Neurológico.

- A. Glasgow Coma Score menor de 6.

Fallo Hepático.

- A. TP mayor de 4 sg sobre el control (en ausencia de anticoagulación).
- B. Bilirrubina mayor de 6 mg%.

APACHE III (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation). Score con variables fisiológicas y anomalías de Laboratorio. A-a DO₂, diferencia de tensión de oxígeno alveolo-arterial; WBC, recuento de células blancas sanguíneas; BUN, nitrógeno uréico sanguíneo.

			8	5		Pulso 0	1	5	7		13	17
			<30	40-49		50-99 latidos/min	100-109	110-119		120-139	140-154	>155
23		15		7	6	Presión sanguínea media 0		4	7	9	10	
<39	40-59		60-69	70-79		80-99 mm/Hg		100-119	120-129	130-139	>140	
	20	16	13	8		0 Temperatura	4					
	<32.9	33-33.4	33.5-33.9	34-34.9		35-35.9		36-39.9°C	>40			
		17		8	7	0 Índice Respiratorio	6	9	11		18	
	<5		6-11	12-13		14-24 respiraciones /min	25-34	35-39	40-49		>50	
		15		5	2	PaO ₂ 0						
	<40		50-69	70-79		>80 mmHg						
					0	**A-aDO ₂	7	9	11	14		
						<100	100-249	250-349	350-499	>500		** A-a DO ₂ sólo se debe usar en pacientes con FIO ₂ < 0.5
					3	Hematocrito 0	3					
						<40.9	41-49%	>50				
19				5		WBC 0	1	5				
<1.0		1.0-2.9				3.0-19.9 cu/mm ³	20-24.9	>25				
					3	0 ***Creatinina s/FRA	4	7				
						<0.43	44-132 µmol/dL	133-171	>172			
						0.5-1.4 mg/dL	1.5-1.94	>1.95				
						0 ***Creatinina c/FRA		10				
						0-132 µmol/dL		>133				
						0-1.4 mg/dL		>1.5				
		15		8	7	5	4	Diuresis 0	1			
	<399		400-599	600-899	900-1499	1500-1999		200-3999 cc/día	>4000			
						0 BUN	2	7	11	12		
						< 6.1 mmol/L	6.2-7.1	7.2-14.1	14.4-28.5	>28.6		
						<16.9 mg/dL	17-19	20-39	40-79	>80		
					3	2	0 Sodio	4				
						<119	120-134	135-154 mEq/L	>155			
		11		6		0 Albúmina	4					
	<19	20-24	2.0-2.4			25-44 g/L	>45					
	<1.9					2.5-4.6 g/dL	>4.5					
						0 Bilirrubina	5	6	8		16	
						< 34 µmol/L	35-51	52-85		86-135	>136	
						< 1.9 mg/dL	2.0-2.9	3.0-4.9		5.0-7.9	> 8.0	
						# Glucosa < 39 mg/dL tiene menor peso que entre 40 y 59	# 8	# 9		0 Glucosa	3	5
							< 2.1	2.2-3.3		3.4-11.1 mmol/dL	11.2-19.3	> 19.4
							< 39	40-59		60-199 mg/dL	200-349	> 350

*** Se define Fracaso Renal Agudo (FRA) cuando la creatinina > 1.5 mg/día y la diuresis es <410 cc/día sin estar sometido a diálisis crónica.

APACHE III. Score para las anomalías ácido/base.

pCO ₂ /pH	<25	25- <30	30- <35	35- <40	40- <45	45- <50	50- <55	55- <60	>60
<7.15	12						4		
7.15- <7.2	12						4		
7.2- <7.25	9		6		3		2		
7.25- <7.30	9		6		3		2		
7.30- <7.35	0						1		
7.35- <7.40	0						1		
7.40- <7.45	5		0		2		1		
7.45- <7.50	5		0		2		1		
7.50- <7.55	0						1		
7.55- <7.60	3						12		
7.60- <7.65	0		3		0		12		
>7.65	0		3		0		12		

SAPS II (Simplified Acute Physiology Score); FIO2: fracción inspirada de oxígeno; kPa: kilopascal; SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

Variable	Puntos	26	13	12	11	9	7	6	5	4	3	2	0	1	2	3	4	6	7	8	9
Edad (años)													<40							40-69	
Pulso (lat/min)					<40							40-69	70-119				120-159			>160	
Tensión sistólica (mm Hg)		<70							70-99				100-199			>200					
Temperatura (°C)													<39			>39					
PaO ₂ mmHg/FIO ₂					<100	100-150			150-200												
PaO ₂ kPa/FIO ₂					<13.3	13.3-26.7															
Diuresis l/día					<0.500				0.500-0.999				>1000								
Urea mmol/L (g/L)													<10.0 (<80.0)							10.0-20.0 (80-160)	
BUN mg/dL													<20								20-50
N° células blancas					<1.0								1.0-19.9								>20.0
Potasio mmol/L													<3.0								>5.0
Sodio mmol/L													125-144		45						
Bicarbonato mmol/L											10-19		>20								
Bilirrubina micromol/L mg/dL													68.4 (4.0)								68.4-102.6 (4.0-5.9)
Glasgow Coma Score		<8	8-10			10-13															
Enfermedad crónica																					Cancer metastásico
Tipo de admisión													Quirúrgica programada				Médica				Quirúrgica no programada

Variables y definiciones para el SAPS II.

Edad	Edad en años desde el último cumpleaños.
Pulso	El peor valor obtenido en las últimas 24 horas, alto o bajo.
Tensión sistólica	La mayor tensión sistólica.
Temperatura	La mayor temperatura en °C.
PaO ₂ /FiO ₂ ratio	El menor ratio PaO ₂ /FiO ₂ si el paciente está sometido a ventilación asistida.
Diuresis	Cantidad de orina (en litros) en 24 horas.
Nº células blancas	El peor recuento (alto o bajo) de leucocitos de acuerdo con el score.
Placas	El peor valor (alto o bajo) en mmol/L, según el score.
Sodio	El peor valor (alto o bajo) en mmol/L, según el score.
Bilirrubina	El valor mayor en µmol/L o mg/dL.
Clase de ingreso	El tipo de ingreso del paciente va a ser sedado o no sedado antes de la sedación.
Tipo de admisión	Cirugía no programada ¹ , cirugía programada ² o médica ³ .
Enfermedad hematológica maligna	Del tipo de leucemia, linfoma, o mieloma múltiple.
Cáncer metastásico	Diagnóstico de las metástasis mediante TAC o por cirugía.

¹ Pacientes que serán operados en las siguientes 24 horas.
² Pacientes cuya operación se programa para dentro de más de 24 horas.
³ Pacientes que no serán operados por lo menos en una semana.

MSOF (Multiple System Organ Failure Scoring System). Ejemplo de Score basado en el recuento del número de órganos que fracasan.

1. Sistema Respiratorio: dependencia de un respirador artificial con un gradiente alveolo arterial superior a 250 mmHg o shunt pulmonar mayor del 20%.

2. Sistema Cardiovascular: agenes adrenérgicos para menteer la MAP >55 mm Hg en auisencia de hipovolemia (PAWP>6mm Hg).

3. Sistema Renal: creatinina >300 µmol/L.

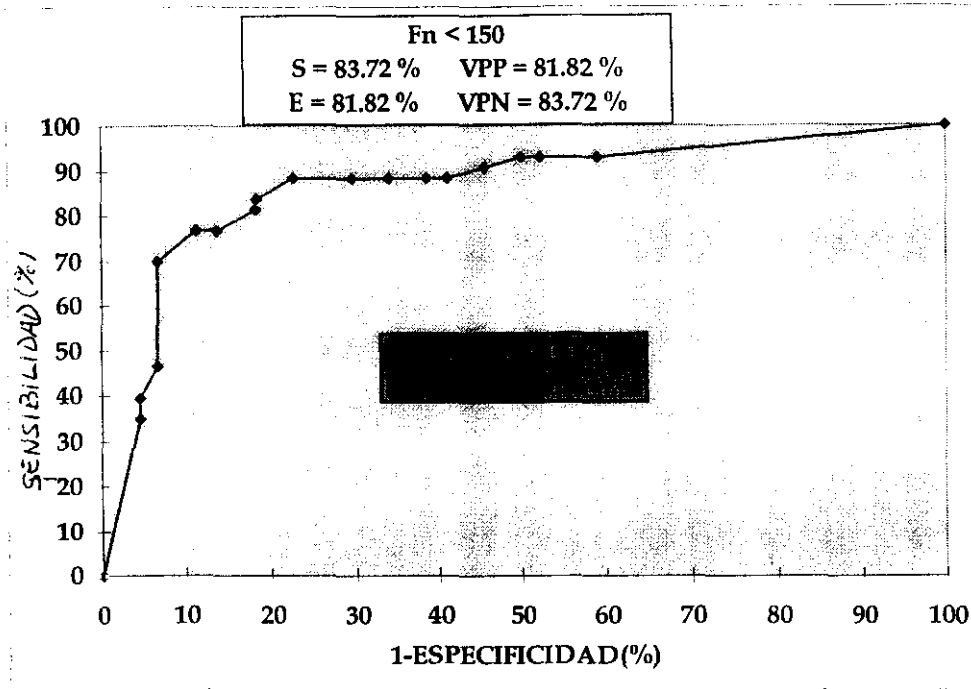
4. Sistema Hepático: Bilirruvina >60 mmol/L o fosfatasa alcalina >350 U/L.

5. Sistema Gastrointestinal: sangre fresca de la sonda nasogástrica y/o memlena o sangre fresca en el recto acompañada por una caída en la hemoglobina >20 g/L que requiere al menos dos concentrados de hematies en 24 horas.

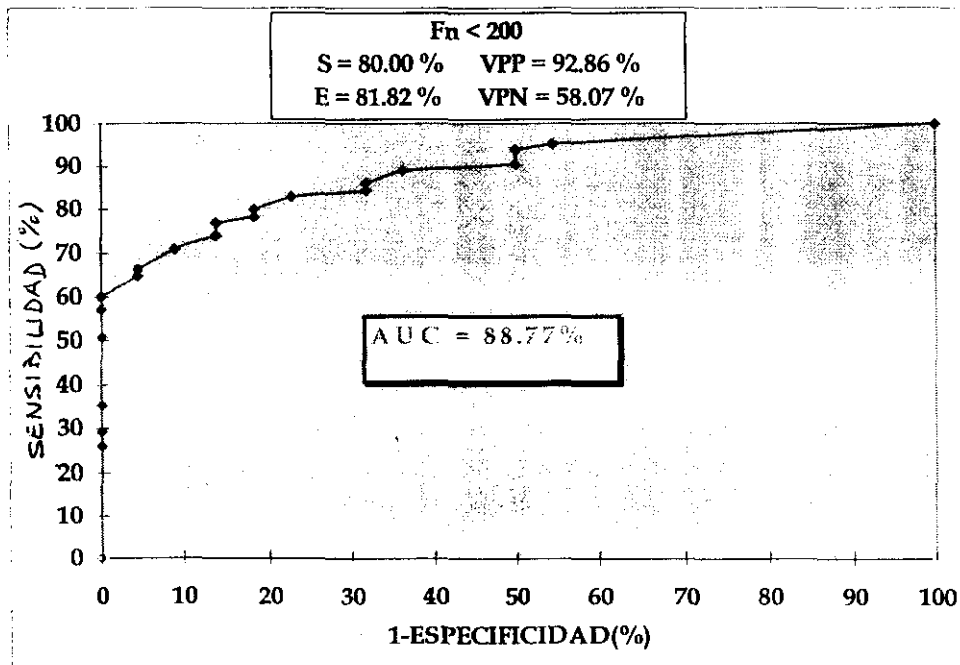
6. Sistema Hematológico: uno omás de los siguientes criterios: recuento de células blancas en sangre periférica <2.0 x 10⁹/L, recuento de plaquetas <40 x 10⁹/L ; o pruebas de coagulación anormales que sugieran el desencadenamiento de una CID (Tiempo de Protrombina >2 INR, PTT >2 normal, y PDF>10 mg/L).

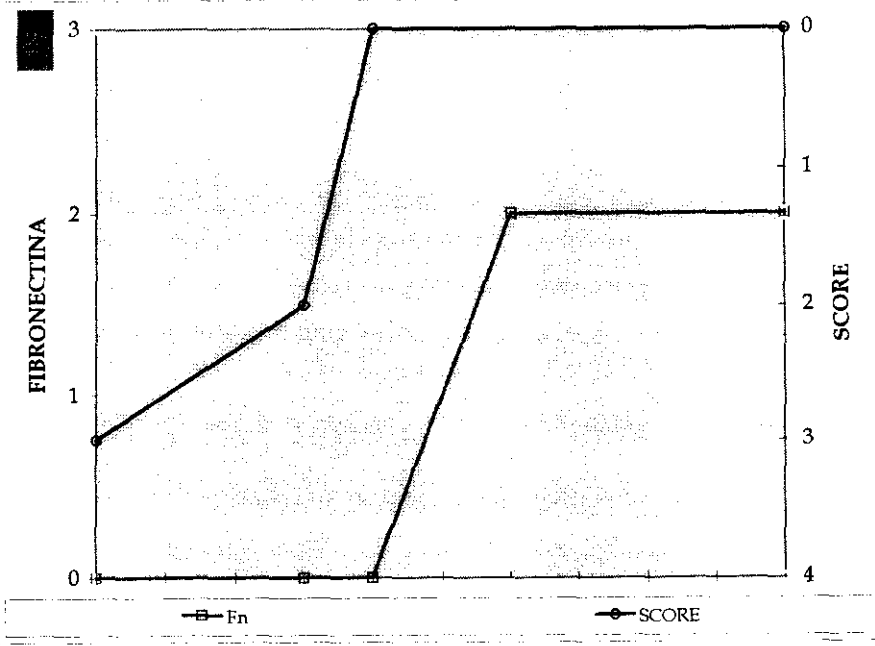
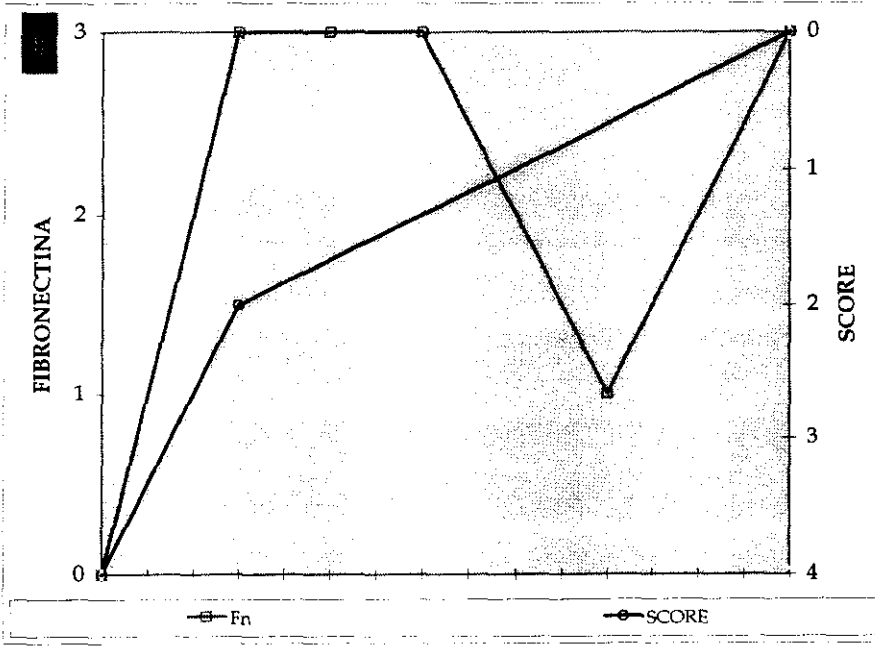
7. Sistema Nervioso Central: Glasgow Coma Score <10 o disminución de más de tres puntos si existe lesión en el Sistema Nervioso Central.

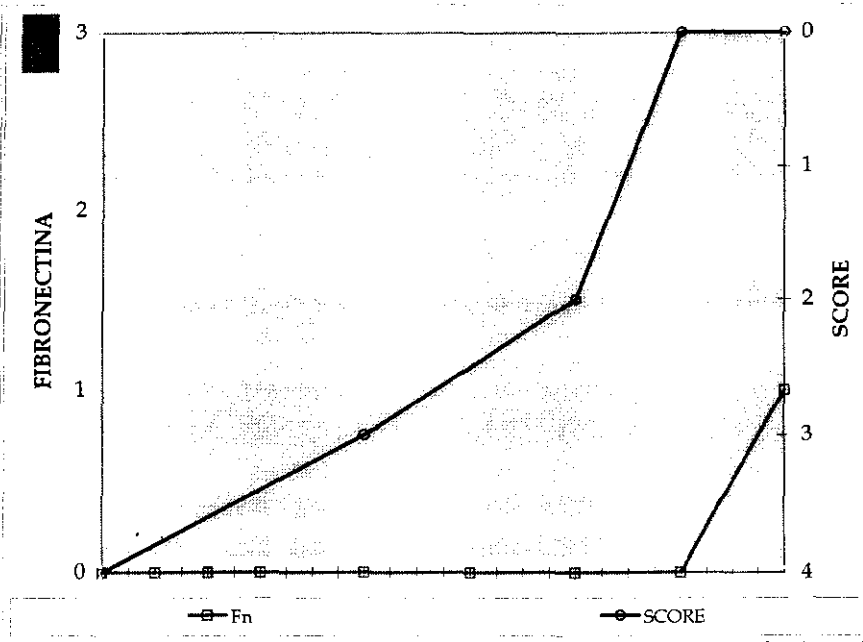
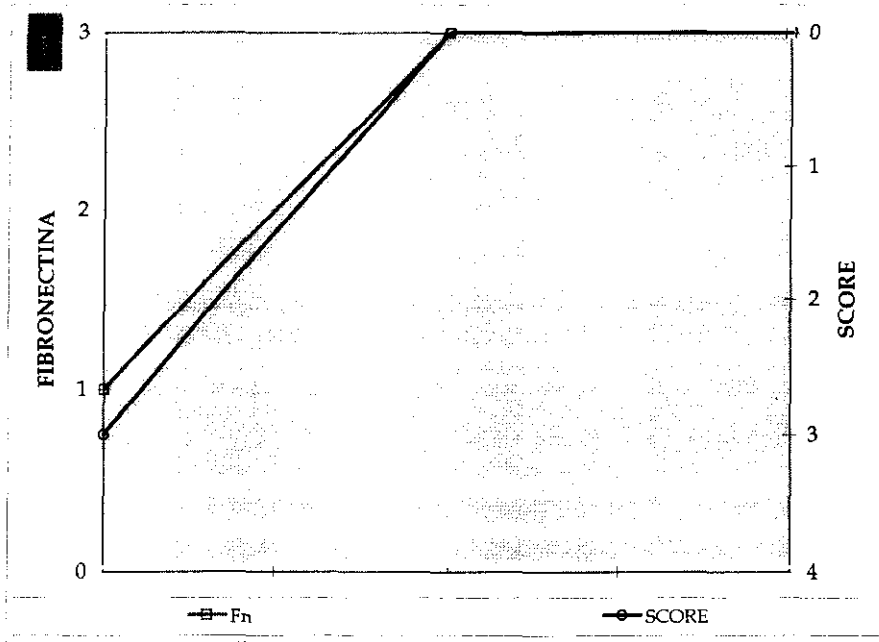
En este Gráfico obtenemos un área Bajo la Curva (AUC) del punto de corte que distingue a los casos (pacientes sépticos) del resto de controles (sanos y enfermos con otras patologías) y corresponde a 150 µg/mL.

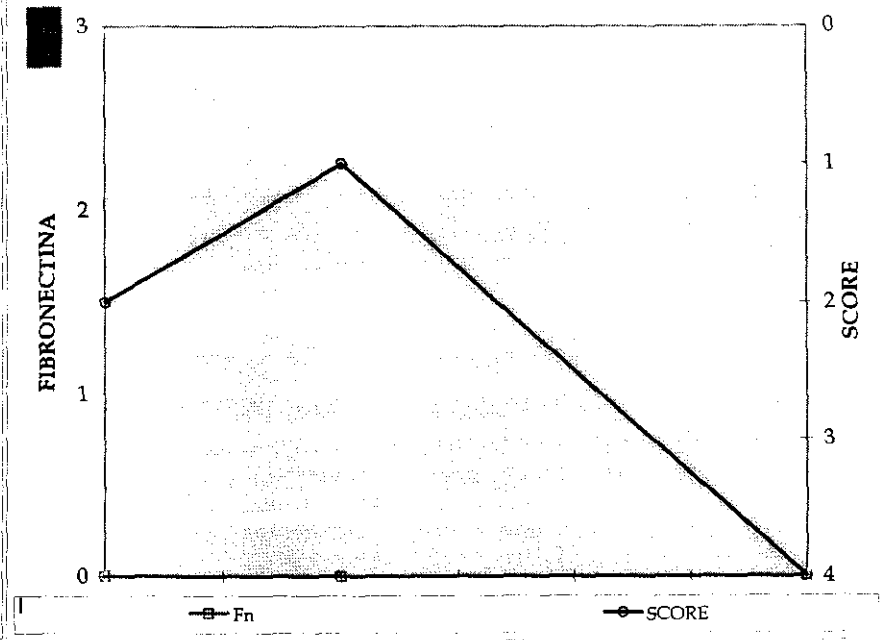
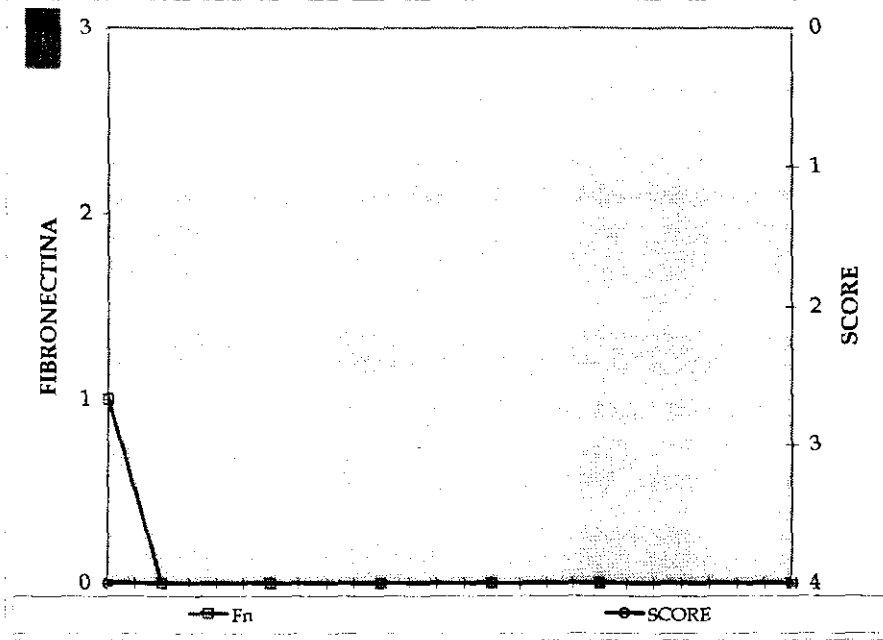


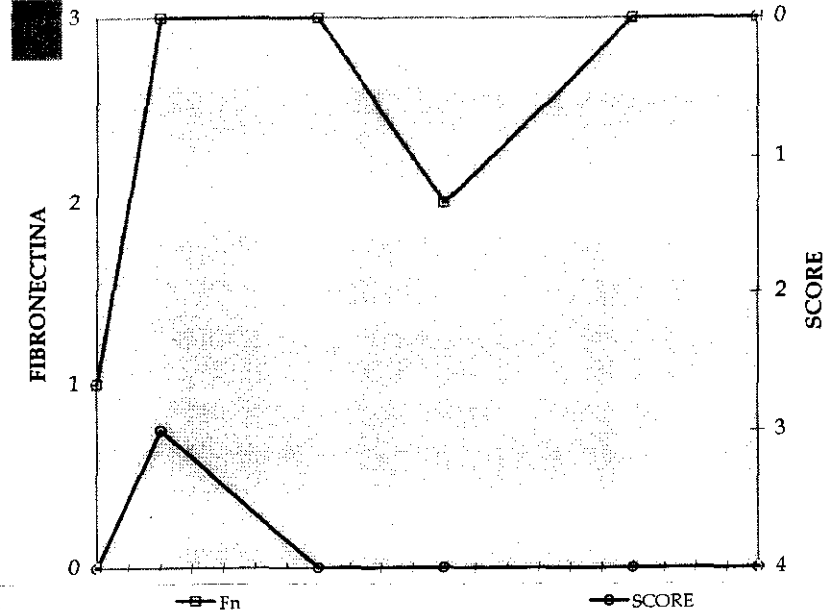
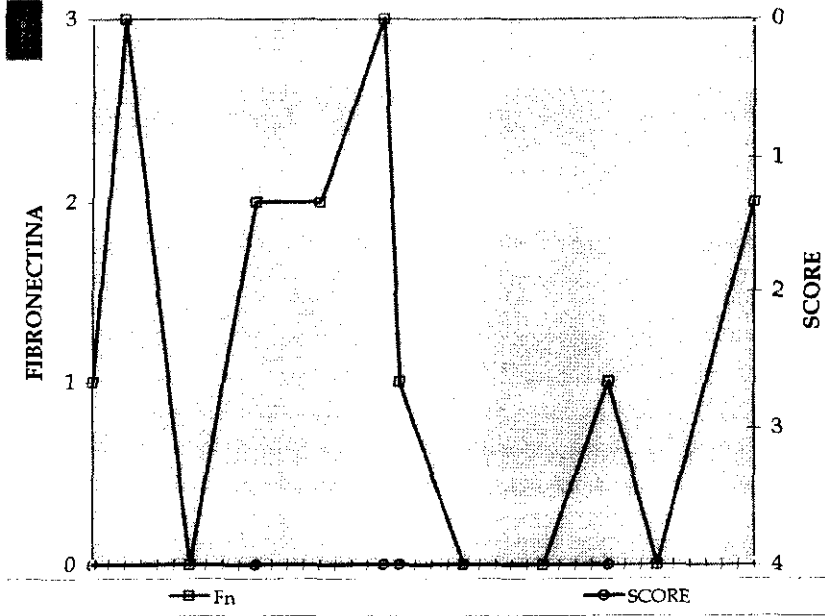
En este gráfico obtenemos el AUC del punto de corte que discrimina los sujetos sanos del resto de enfermos (sépticos o no). Su valor es de 200 µg/mL.

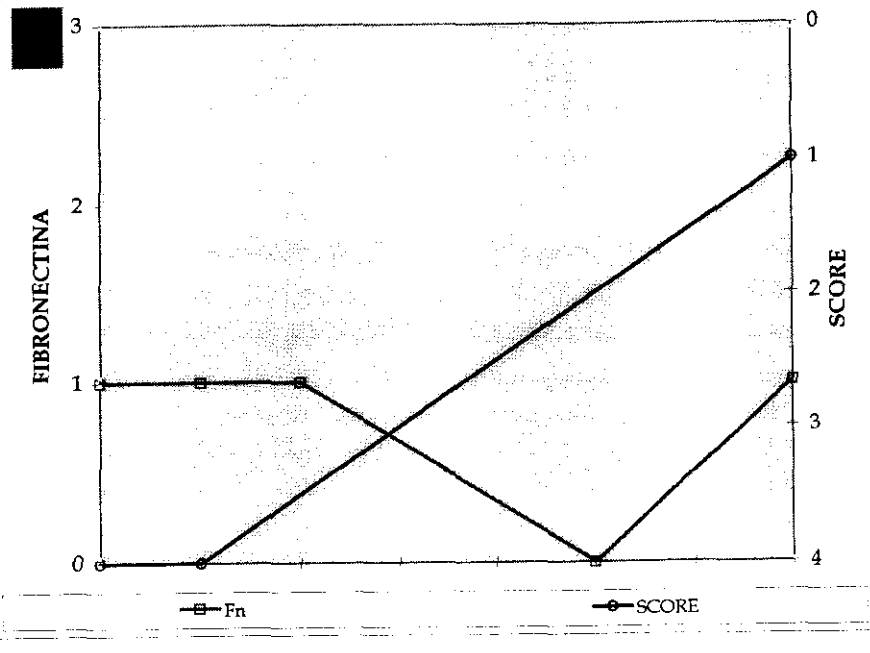
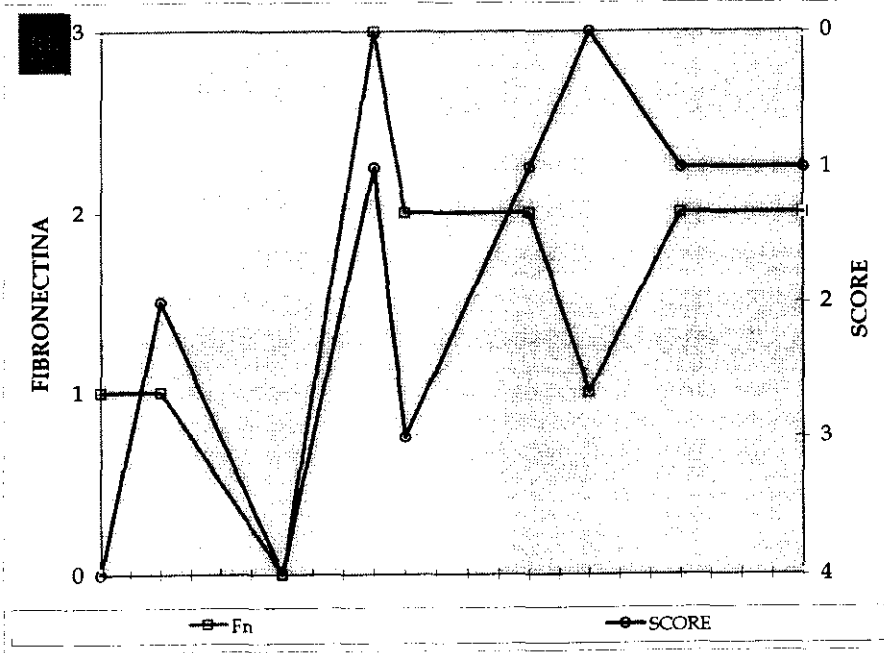


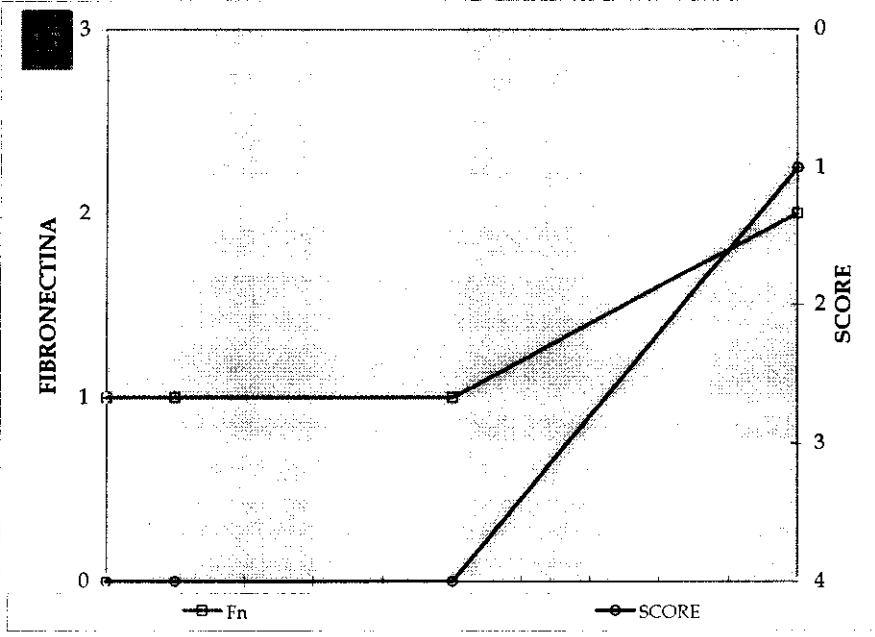
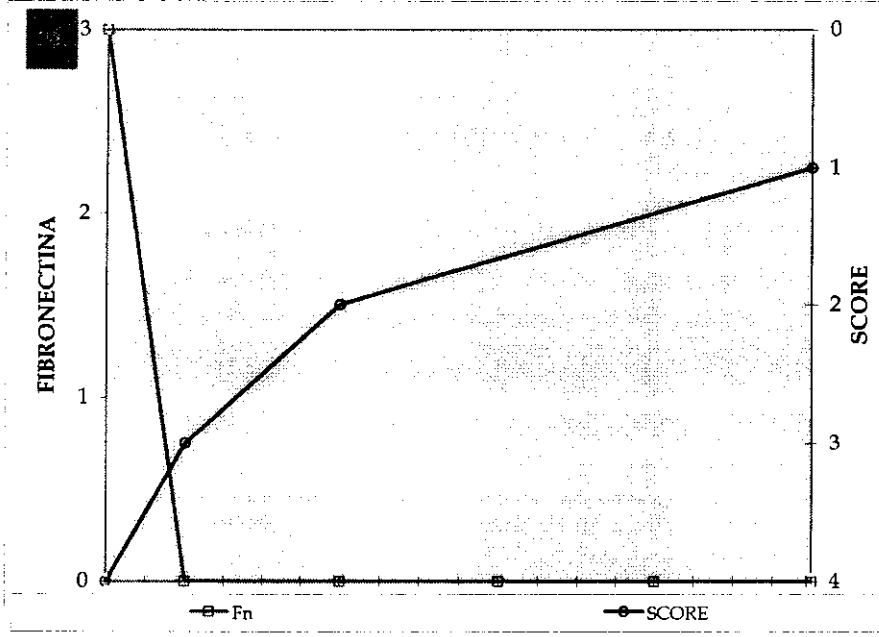


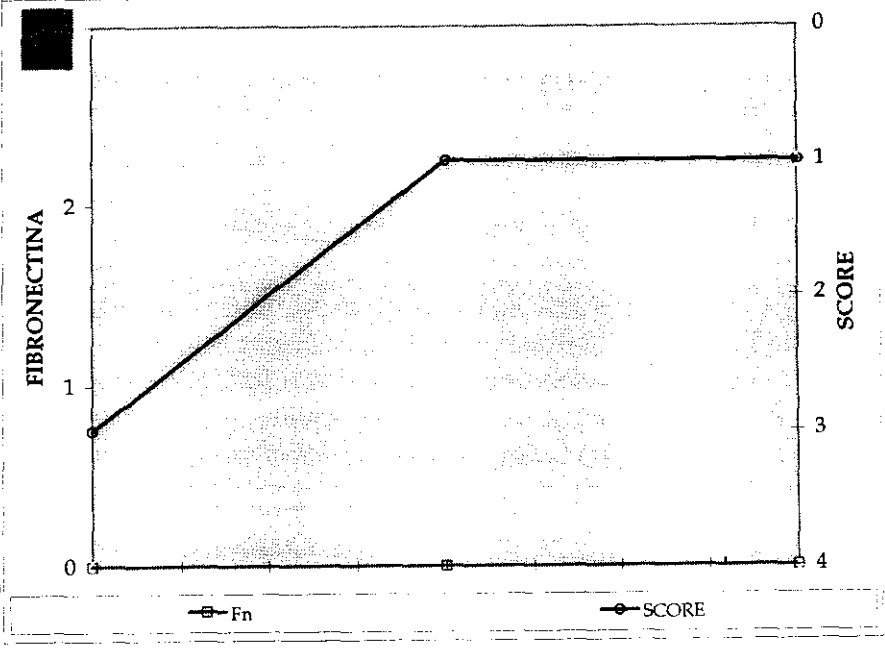
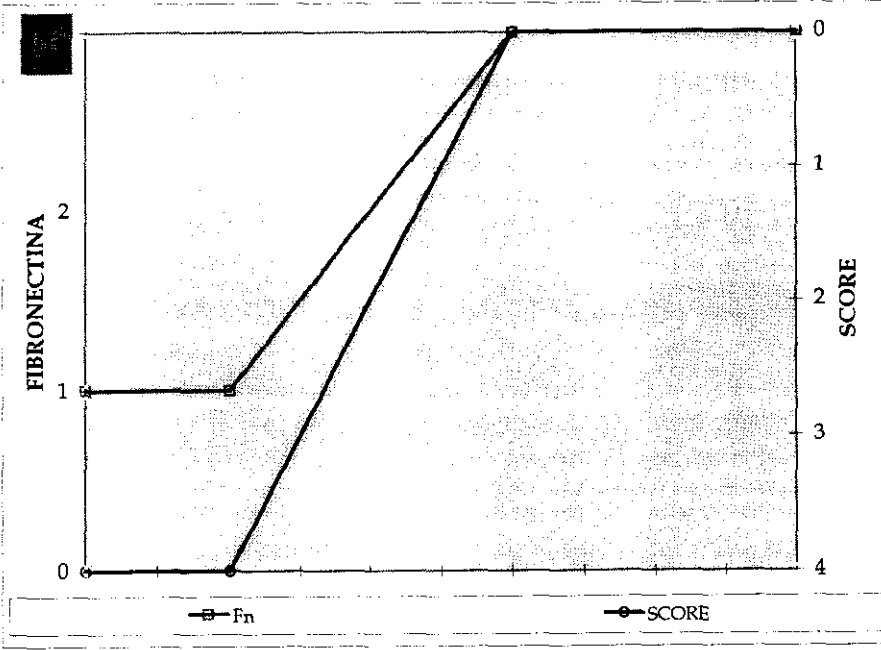


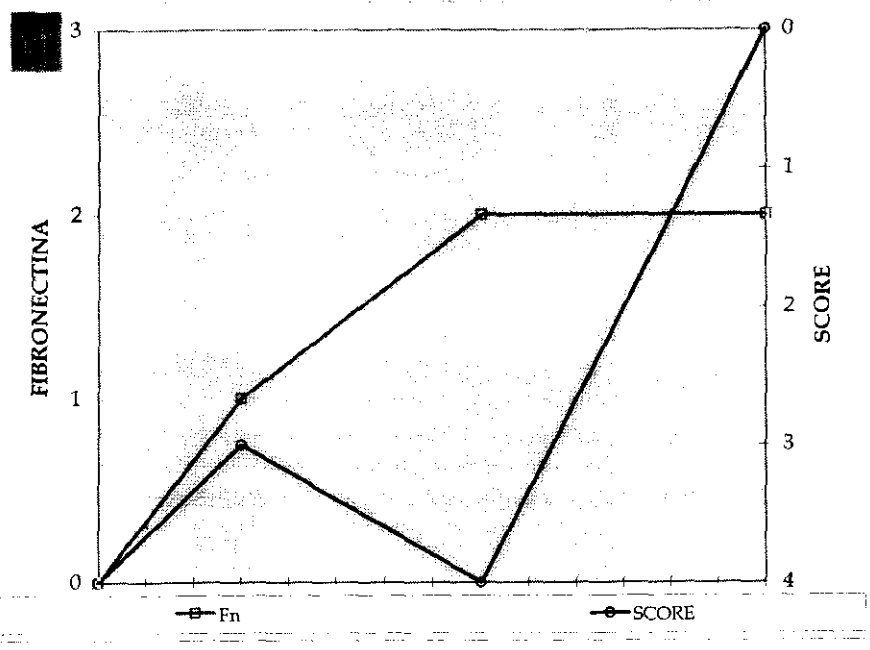
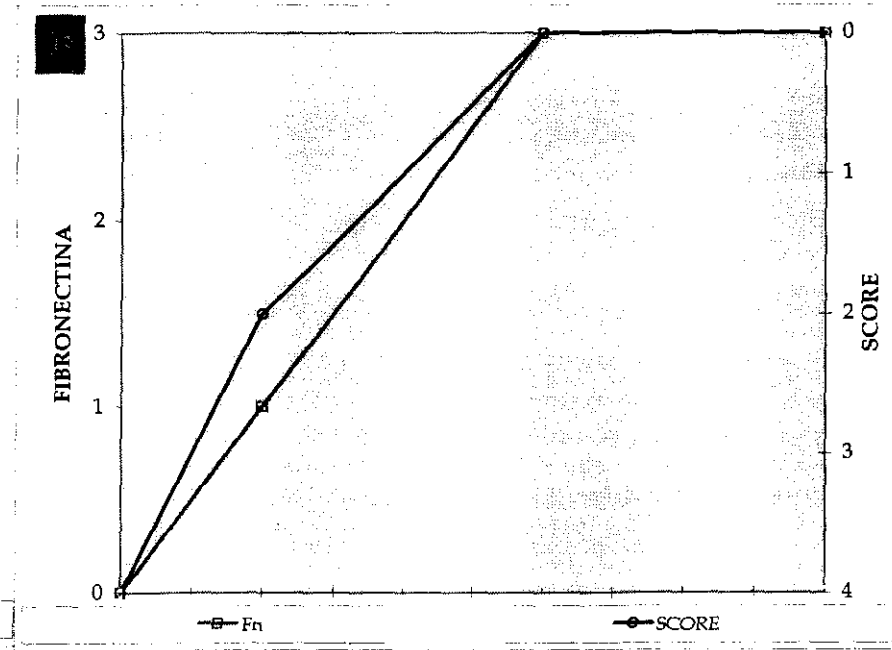


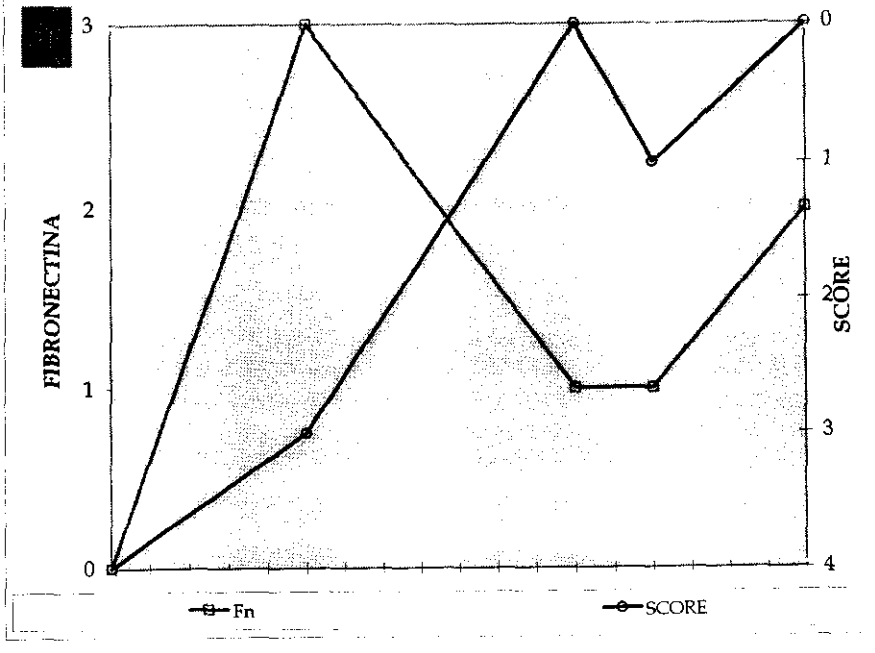
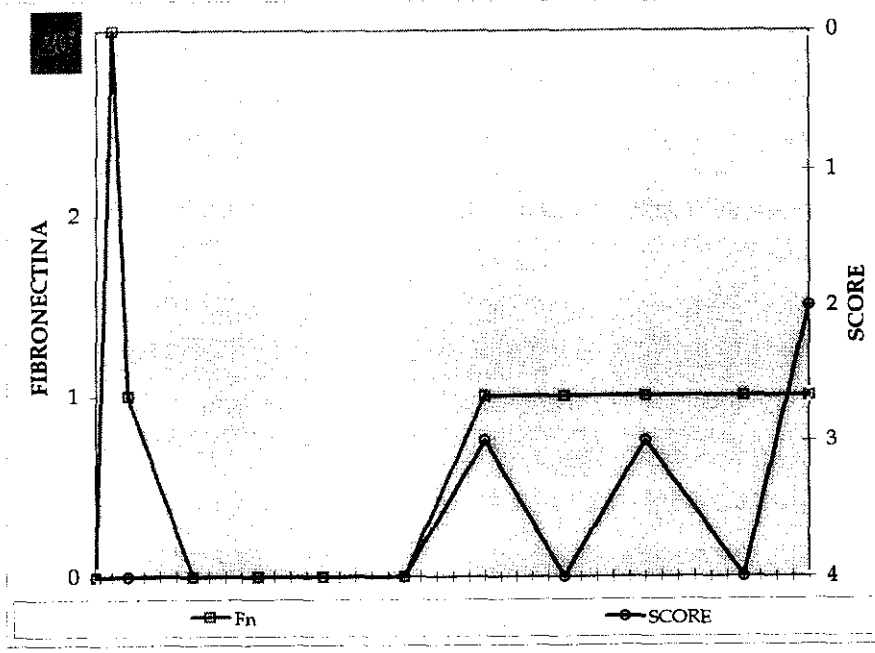


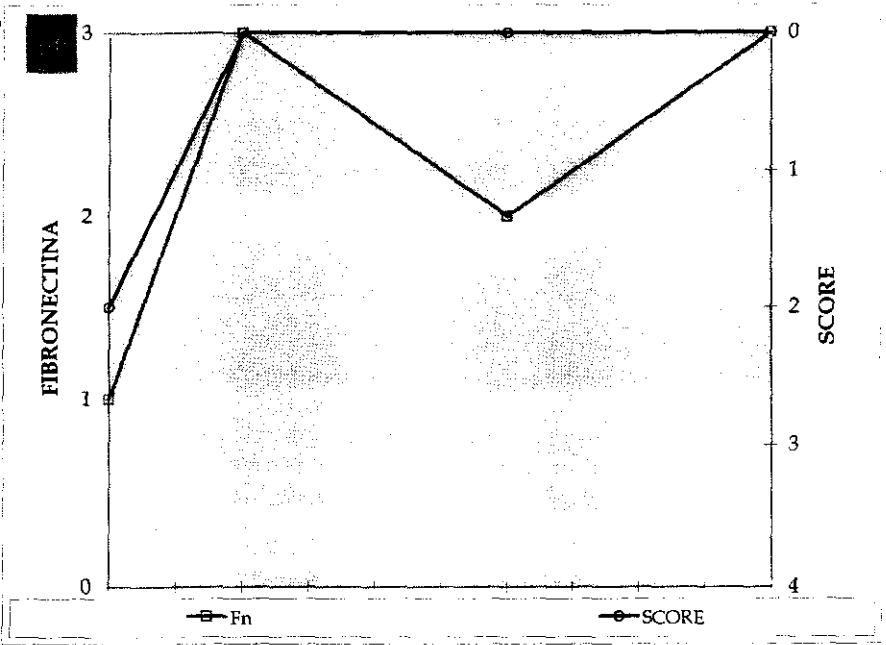
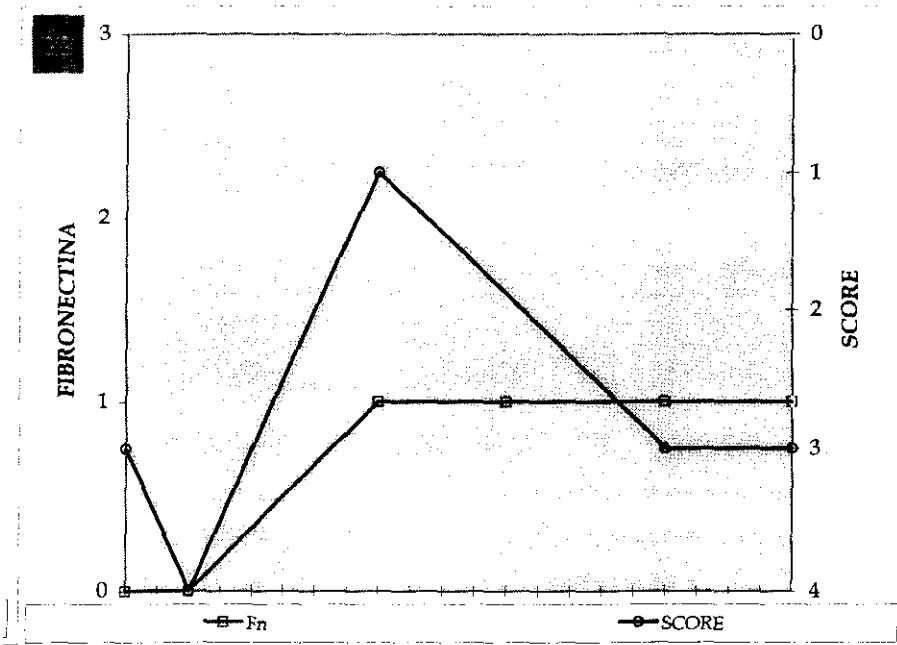


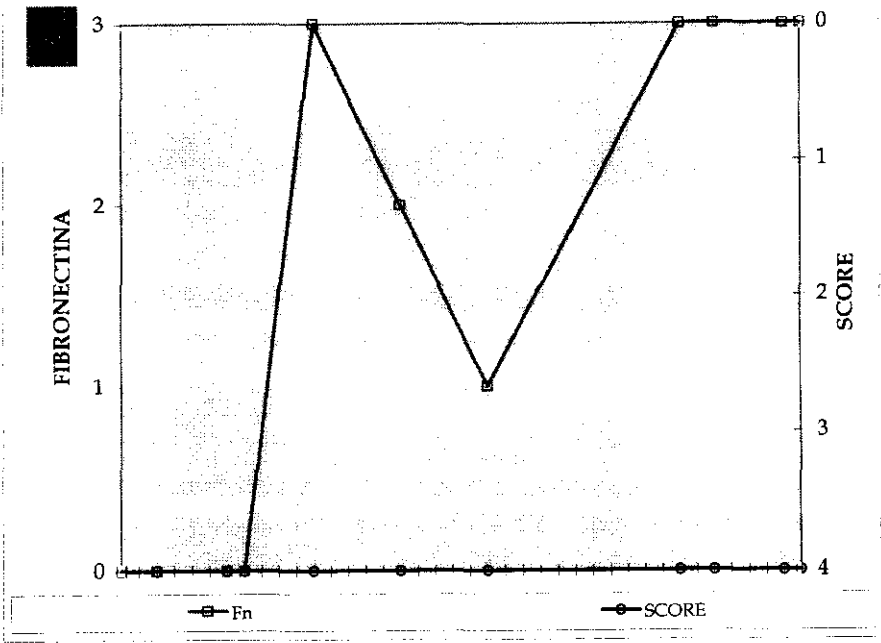
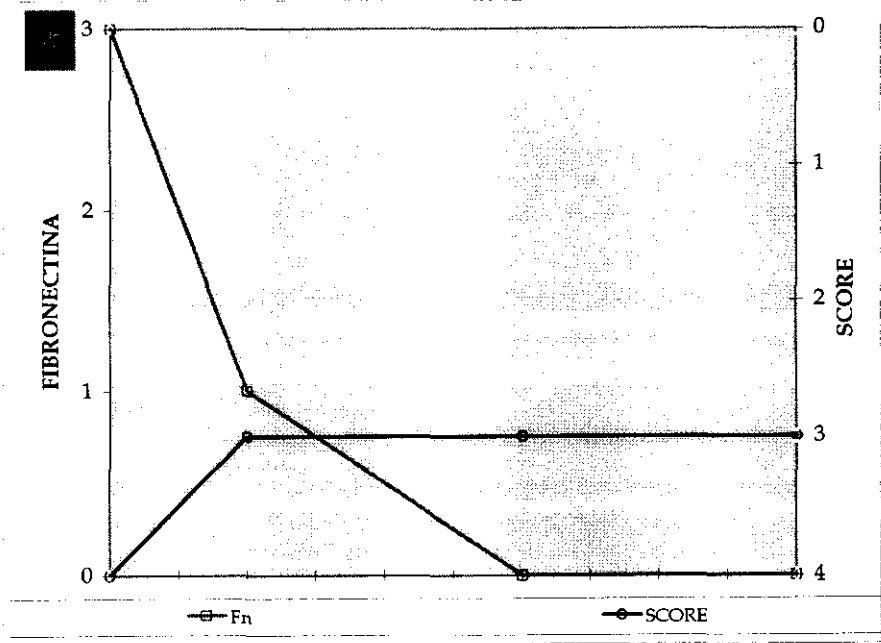


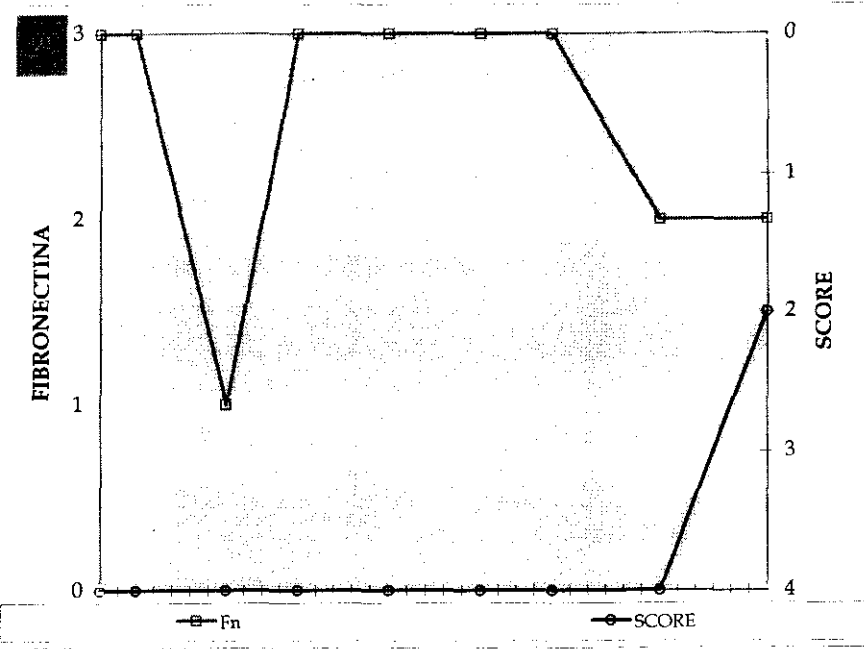
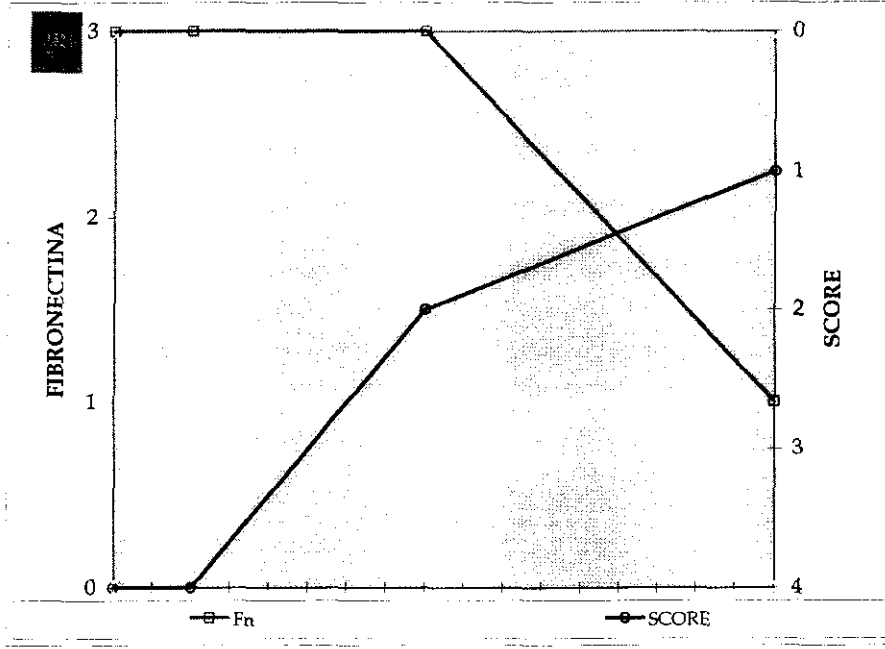


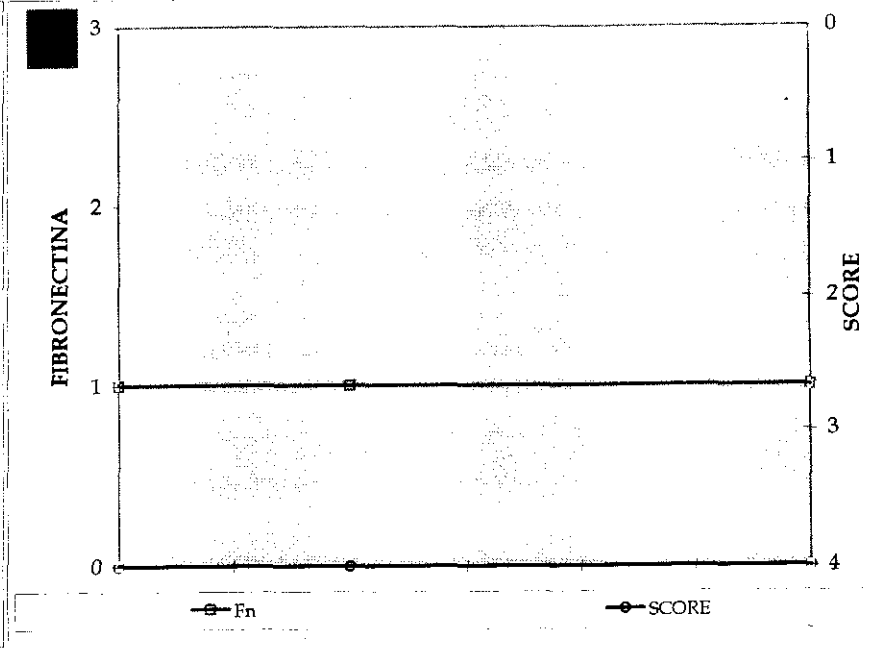
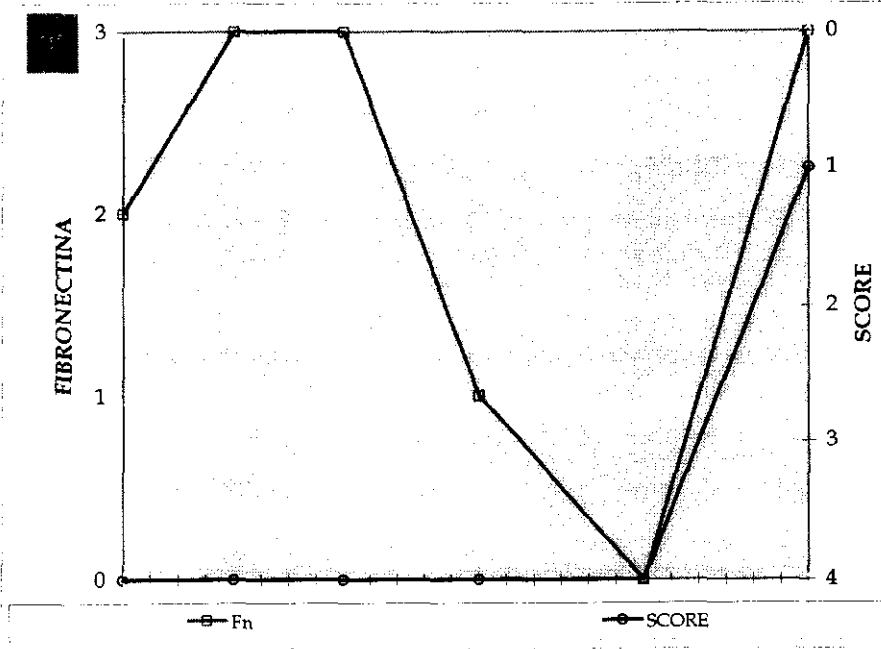


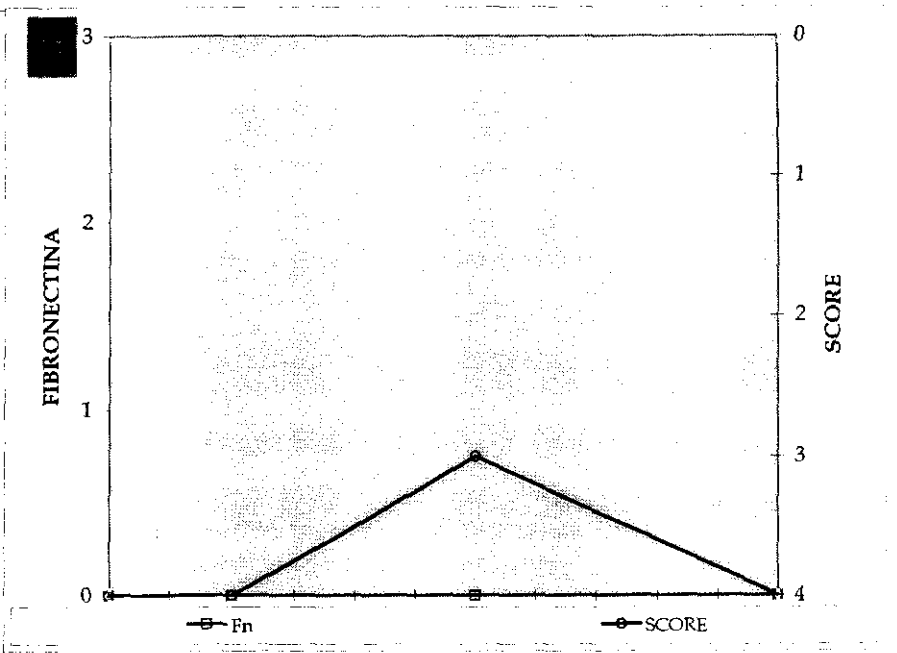
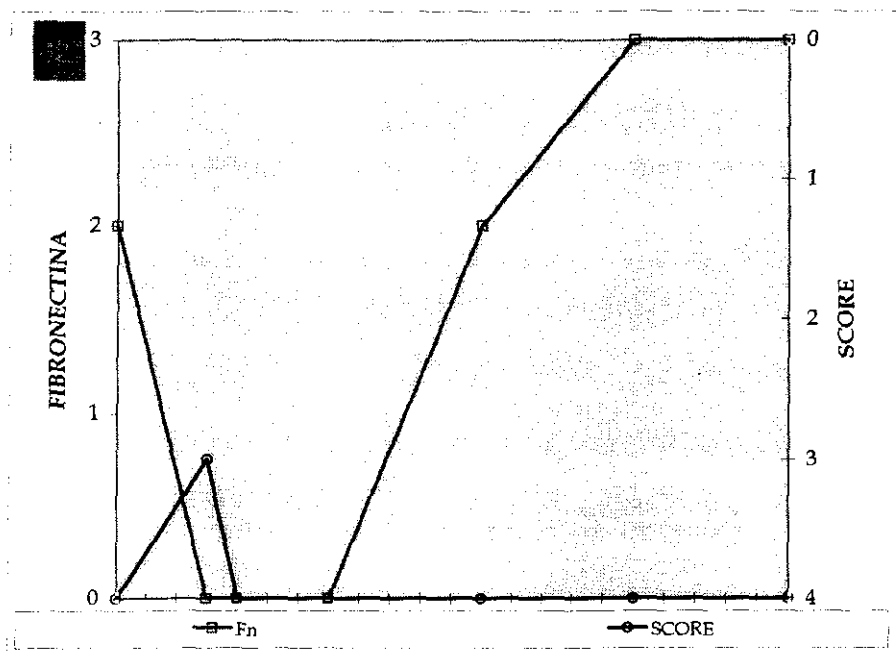


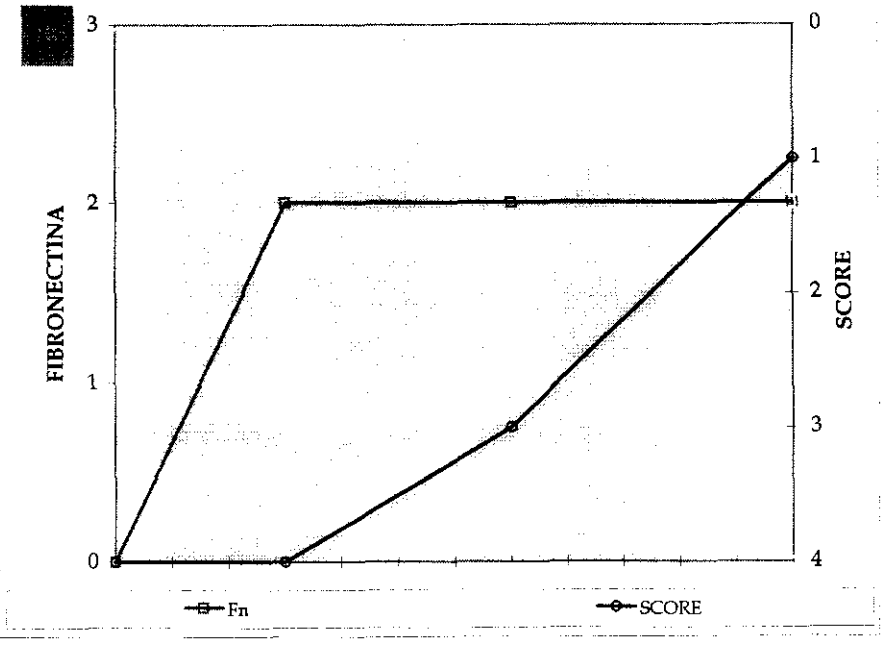
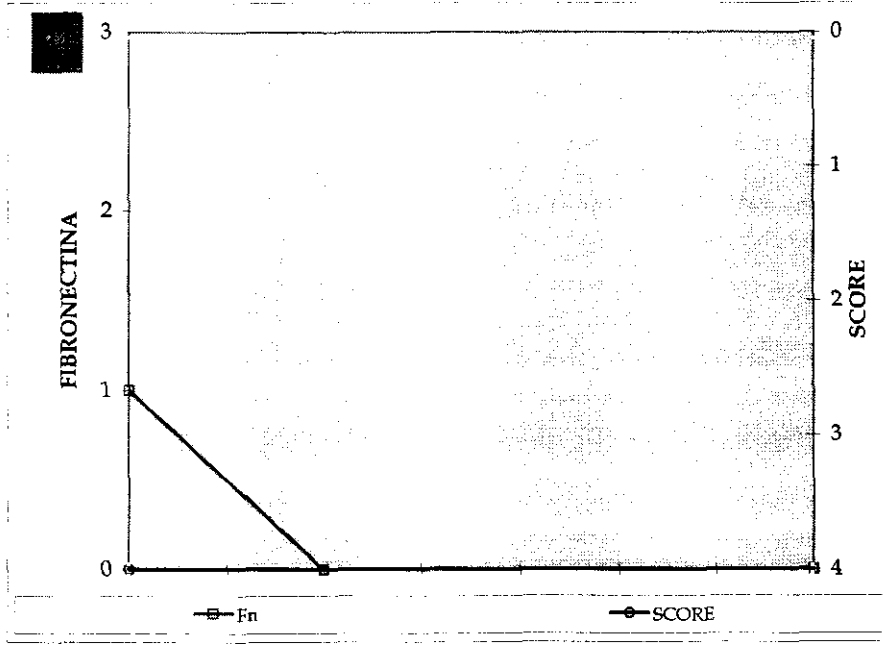


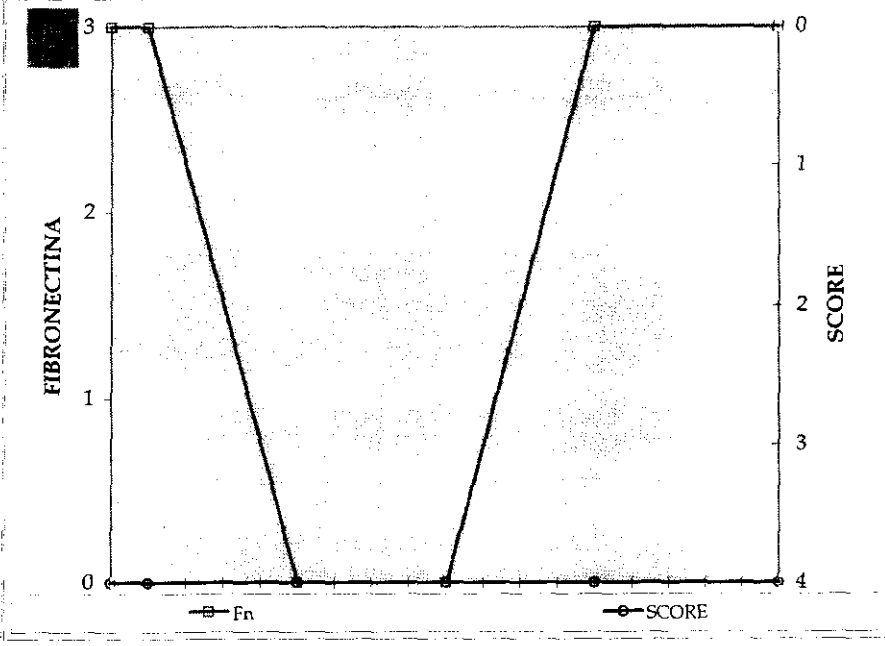
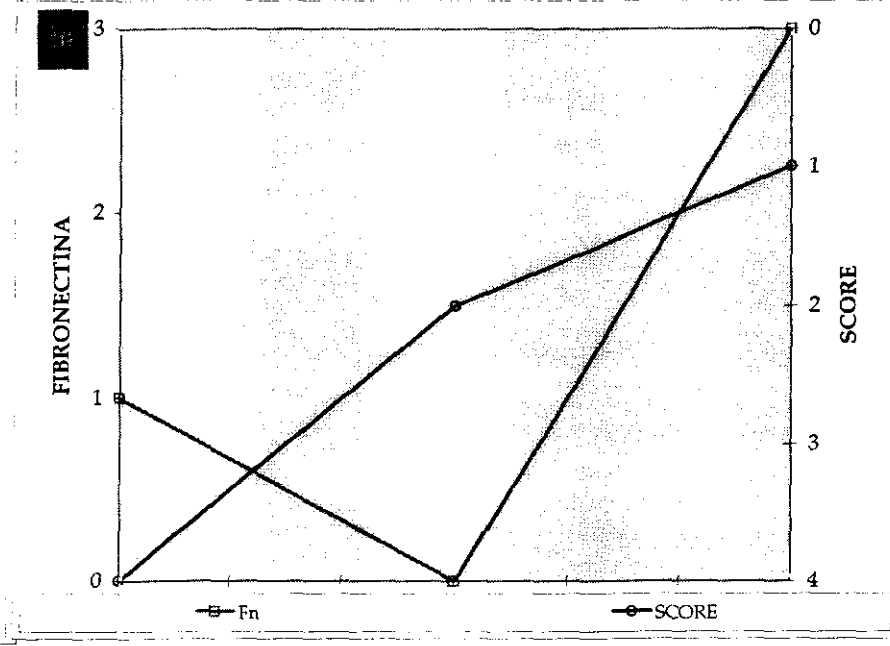


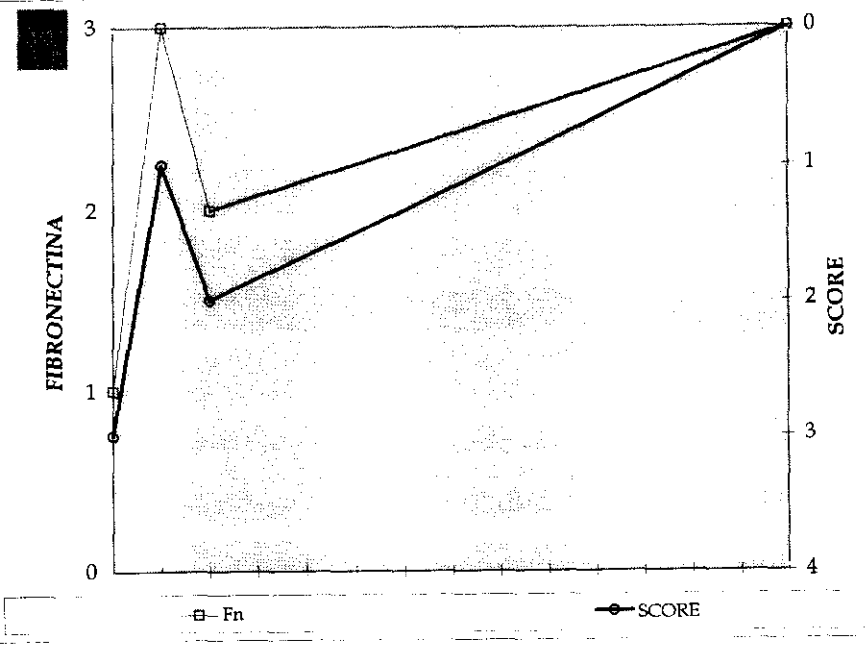
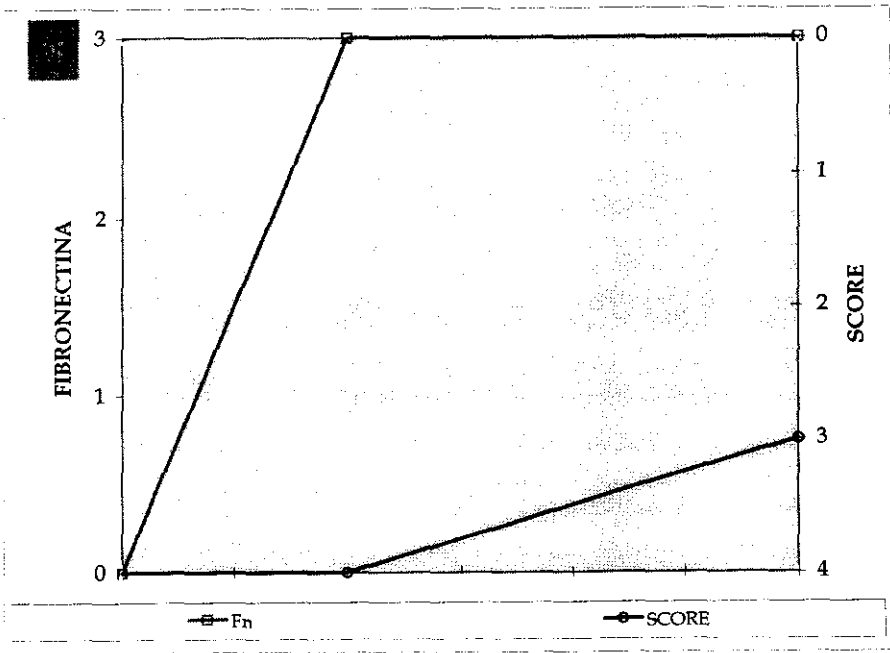


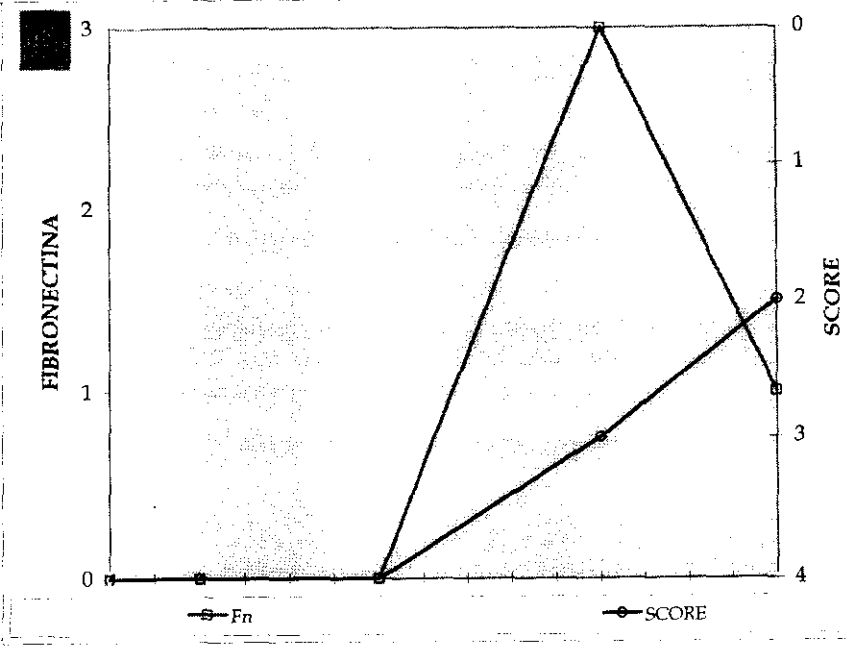
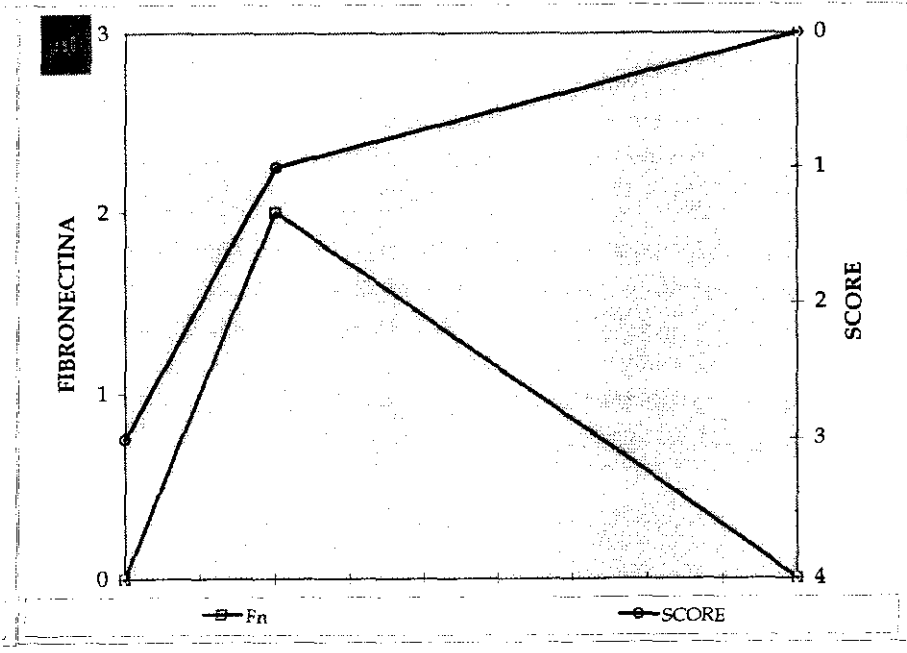


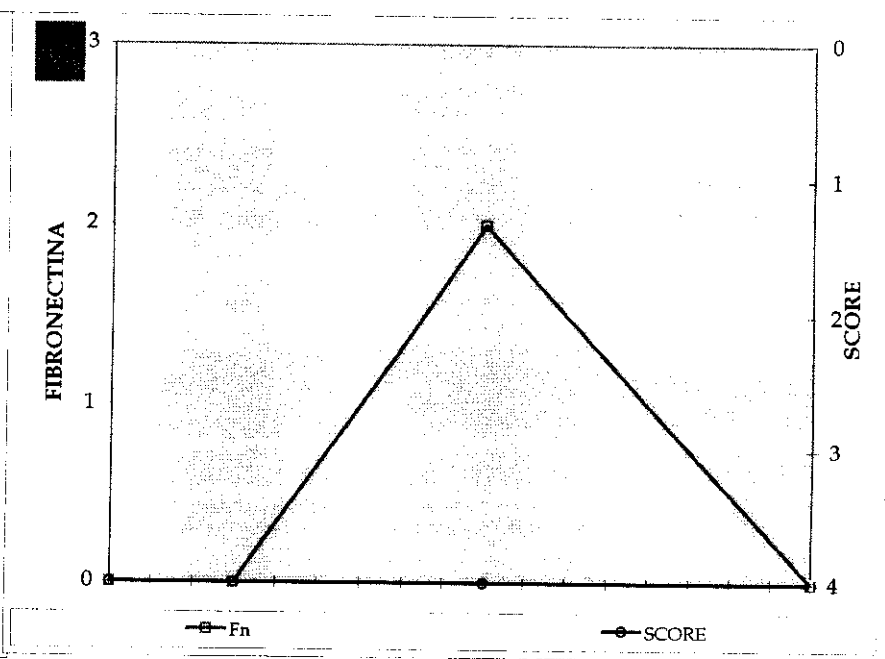
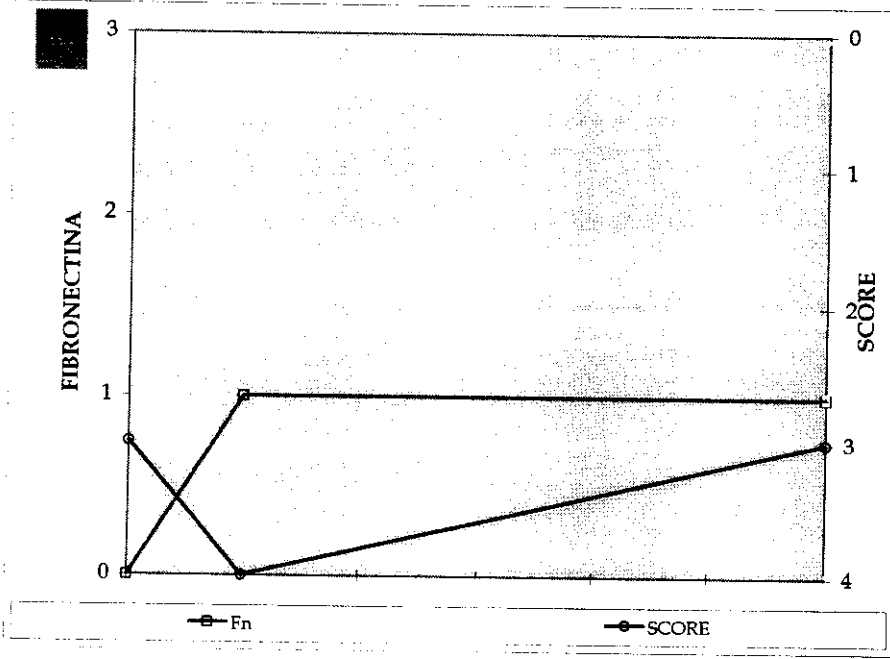












VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Bone RC. Multiple Organ Failure Syndrome In The 1990s. JAMA 1994; 271: 226-233.
2. Berg RD, Wommack E, Deitch EA: Immunosuppression And Intestinal Bacterial Overgrowth Synergistically Promote Bacterial Traslocation. Arch Surg 1988; 123: 1.359-1.364.
3. Deitch EA, Winterton J, Li M, Berg R. The Gut As A Portal Of Entry For Bacteremia: Role Of Protein Malnutrition. Ann Surg 1987; 205: 681-692.
4. Border JR, Hassett J, La Duca J, *et al.* The Gut Of Origin Septic States In Blunt Multiple Trauma In The ICU. Ann Surg 1987; 206: 427-448.
5. Tellado JM, Goyanes A, Jimenez J. Modulación De La Respuesta Inflamatoria En Sepsis. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 13: 44-59.
6. Browning JL, Ngam-Ek A, Lawton P, Demarinis J, Tizard R, Pingchang Chow E, *et al.* Lymphotoxin Beta, A Novel Member Of The TNF Family That Forms A Heteromeric Complex With Lymphotoxin On The Cell Surface. Cell 1993; 72: 847-856.
7. Farrah T, Smith CA. Emerging Cytokine Family. Nature 1992; 358: 26.
8. Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular Cloning And Expression Of The Fas Ligand, A Novel Member Of The Tumor Necrosis Factor Family. Cell 1993; 75: 1,169-1,178.
9. Goodwin RG, Alderson MR, Smith CA, Armitage RF, Vandebos R, Jerzy R *et al.* Molecular And Biological Characterization Of A Ligand For CD27 Defines A New Family Of Cytokines With Homology To Tumor Necrosis Factor. Cell 1993; 73: 447-456.
10. Moldawer LL. Biology Of Proinflammatory Cytokines And Their Antagonist. Crit Care Med 1994; 22: S3-S7.
11. American College Of Chest Physicians /Society Of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions For Sepsis And Organ Failure And Guidelines For The Use Of Innovative Therapies In Sepsis. Crit Care Med 1992; 20: 864-874.

12. Suffredini AF. Current Prospects For The Treatment Of Clinical Sepsis. *Crit Care Med* 1994; 22: S12-S18.
13. Balk RA, Bone RC. The Septic Syndrome: Definition And Clinical Implications. *Crit Care Clin* 1989; 5: 1-8.
14. Ayres SM: SCCM'S New Horizons Conference On Sepsis And Septic Shock. *Crit Care Med* 1985; 13: 864-866.
15. Bevilacqua MP. Endothelial-Leukocyte Adhesion Molecules. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 767-804.
16. Hynes RO. Integrins: Versatility, Modulation And Signaling In Cell Adhesion. *Cell* 1992; 69; 11-25.
17. Springer TA. Adhesion Receptors Of The Immune System. *Nature* 1990; 346: 4.255-4.434.
18. Bevilacqua MP, Nelson RM. Selectins. *J Clin Invest* 1993; 91:379-388.
19. Lasky LA. Selectins: Interpreters Of Cell-Specific Carbohydrate Information During Inflammation. *Science* 1992; 258: 964-969.
20. Baumnueter S, Singer MS, Henzel W, Hemmerich S, Renz M, Rosen SD, *et al.* Binding Of L-Selectin To The Vascular Sialomucin CD 34. *Science* 1993; 262: 436-438.
21. Newman W, Beall LD, Carson CW, Hunder GG, Graben N, Randhawa ZI, *et al.* Soluble E-Selectin Is Found In Supernatants Of Activated Endothelial Cells And Is Elevated In The Serum Of Patients With Septic Shock. *J Immunol* 1993; 150: 644-654.
22. Tellado JM, Christou NV. Decreased Polymorfonuclear Leukocyte Exudation In Critically Ill Anergic Patients With Incresed Adhesion Receptor Expression. *Crit Care Med* 1993; 21: 1.496-1.501.
23. Bishop MJ, Kowalski TF, Guidotti SM, Harlan JM. Antibody Against Neutrophil Adhesion Improves Reperfucion And Limits Alveolar Infiltrate Following Unilateral Pulmonary Artery Occlusion. *J Surg Res* 1992; 52: 199-204.

24. Vedder NB, Winn RK, Rice RL, Chi EY, Arfords KE. A Monoclonal Antibody To The Adherence-Promoting Leukocyte Glycoprotein, CD18, Reduces Organ Injury And Improves Survival From Hemorrhagic Shock And Resuscitation In Rabbits. *J Clin Invest* 1988; 81: 919-944.
25. Doerschuck CM, Winn RK, Coxon HO, Harlan JM. CD18 Dependent And Independent Mechanisms Of Neutrophil Emigration In The Pulmonary And Systemic Microcirculation Of Rabbits. *J Immunol* 1990; 144: 2.327-2.333.
26. Gee MH, Albertine KH. Neutrophil-Endothelial Cell Interactions In The Lung. *Annu Rev Physiol* 1993; 55: 227-248.
27. Etzioni A, Frydman M, Pollack S, Avidor I, Phillips ML, Paulson JC, *et al.* Recurrent Severe Infections Caused By A Novel Leukocyte Adhesion Deficiency. *N Engl J Med* 1990; 327: 1.789-1.790.
28. Ficher A, Seger R, Durandy A, GrosPierre B. Deficiency Of The Adhesive Protein Complex Lymphocyte Function Antigen 1, Complement Receptor Type 3, Glycoprotein P150,95 In A Girl With Recurrent Bacterial Infections. *J Clin Invest* 1985; 76: 2.385-2.392.
29. Mulligan MS, Lowe JV, Larsen RD, Paulson J, Zheng ZL, Defress S, *et al.* Protective Effects Of Syalated Oligosaccharides In Immune Complex-Induced Acute Lung Injury. *J Exp Med* 1993; 178: 623-631.
30. Saba TM, Blumenstock FA, Scovill WA, Bernard H. Cryoprecipitate Reversal Of Opsonic Alfa-2-Surface Binding Glycoprotein Deficiency En Septic Surgical And Trauma Patients. *Science* 1978; 201: 622-624.
31. Scovill WA, Saba TM, Blumenstock FA, Bernard H, Powers SR. Opsonic Alfa-2-Surface Binding Glycoprotein Therapy In Injured Patients. *Surgery* 1979; 86:284-293.
32. Scovill WA, Anest SJ, Saba TM, Blumenstock FA, Newell JC, Stratton HH, Powers SR. Cardiovascular Hemodynamics After Opsonic Alpha-2-Surface Binding Glycoprotein Therapy In Injured Patients. *Surgery* 1979; 86: 284-293.

33. Annest SJ, Scovill WA, Blumenstock FA, Stratton HH, Newell JC, Paloski WH, Saba TM, Powers SR. Increased Creatinine Clearance Following Cryoprecipitate Infusion In Trauma And Surgical Patients With Decreased Renal Function. *J Trauma* 1980; 20: 726-732.
34. Lundsgaard-Hansen P, Doran JE, Rubli E, Papp E, Morgenthaler J, Spath P. Purified Fibronectin Administration To Patients With Severe Abdominal Infections: A Controlled Clinical Trial. *Ann Surg* 1985; 202: 745-759.
35. Hesselvik F, Brodin B, Carlsson C, Jorfeldt L, Lieden G, Cedergren B. Cryoprecipitate Therapy In Hyperdynamic Septic Shock- A Controlled Clinical Study (Abstract). 18th Congress Of The International Society Of Blood Transfusion. Basel: Karger, 1984: 46.
36. Grossman JE. Plasma Fibronectin And Fibronectin Therapy In Sepsis And Critical Illness. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S420-430.
37. Lanser ME, Saba TM. Opsonic Fibronectin Deficiency And Sepsis. *Ann Surg* 1982; 195: 340-345.
38. Kaplan JE. Plasma Fibronectin And Resistance To Thrombosis During Sepsis. *Adv Shock Res* 1981; 7: 159-172.
39. Aukburg SJ, Kaplan JE. The Influence Of Elevated Fibronectin Levels During Sepsis On The Distribution Of Blood-Borne Particles. *Adv Shock Res* 1981; 6: 37-44.
40. Lurton JM, Everett MM. Increased Survival In Rats Pre-treated With Fibronectin During *Salmonella typhimurium* Bacteremia (Abstract N°145). *Circ Shock* 1985; 16: A92.
41. Emerson TE, Everett MM. Increased Survival With Fibronectin Treatment During Endotoxin Shock In The Rat (Abstract N° 4329). *Fed Proc* 1984; 43: 1.025.
42. Emerson TE Jr. Effect Of Fibronectin On Changes In Serum Enzymes, Glucose And Other Chemicals In The Endotoxemic Rat (Abstract). *Clin Res* 1985; 33: 764A.
43. Everett MM, Hauptman JG. Effects Of Fibronectin Pretreatment On Cardiovascular, Acid-Base, Metabolic, And Organ Function Indices During Endotoxin Shock In The Dog. *Circ Shock* 1986; 19: 137-147.

44. Weinstein SL, Gold MR, De Franco AL. Bacterial Lipopolysaccharide Stimulates Protein Tyrosine Phosphorylation In Macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4.148-4.152.
45. Ed. Definitions Of Sepsis-Have We Reached A Consensus? *Crit Care Med* 1991; 19: 849-851.
46. Bone RC. Toward An Epidemiology And Natural History Of SRIS (Systemic Inflammatory Response Syndrome). *JAMA* 1992; 268: 3.452-3.455.
47. Bone RC. Sepsis And Its Complications: The Clinical Problem. *Crit Care Med* 1994; 22:S8-S11
48. Goris RJA, Boekhorst TAP, Nuytinck JKS, *et al.* Multiple Organ Failure. Generalized Autodestructive Inflammation? *Arch Surg* 1985; 120: 1.109-1.115.
49. Norton LW: Does Drainage Of Intraabdominal Pus Reverse Multiple Organ Failure? *Am J Surg*; 149: 347-350.
50. Marshall Jc, Christou NV, Horn H *et al.* The Microbiology Of Multiple Organ Failure. The Proximal GI Tract As An Occult Reservoir Of Pathogens. *Arch Surg* 1988; 123: 309-315.
51. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, *et al.* Anti-Cachectin/TNF Monoclonal Antibodies Prevent Septic Shock During Lethal Bacteriemia. *Nature* 1987; 330: 662-664.
52. Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, *et al.* Interleukin 1 Induces A Shock-Like State In Rabbits. Synergism With Tumor Necrosis Factor And The Effect Of Cyclooxygenase Inhibition. *J Clin Invest* 1988; 81: 1.162-1.172.
53. Wallace JL, Steel G, Whittle BJR, *et al.* Evidence For Platelet Activating Factor As A Mediator Of Endotoxin-Induced Gastrointestinal Damage In The Rat. Effects Of Three Platelet-Activating Factor Agonist. *Gastroenterology* 1987; 93: 765-773.
54. Sculier JP, Bron D, Verboven N, *et al.* Multiple Organ Failure During Interleukin-2 And LAK Cell Infusion. *Intensive Care Med* 1988; 14: 666-667.
55. Heard SO, Fink MP. The Multiple Organ Failure Syndrome. In: *Intensive Care Medicine*. Third Edition. Rippe, Irwin, Fink, Cerra (Eds). Little, Brown And Co, 1996.

56. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP. Prognosis In Acute Organ System Failure. *Ann Surg* 1985; 202: 685.
57. American Joint Committee On Cancer. Manual For Staging Of Cancer. Third Edition. Philadelphia, JB Lippincott, 1988.
58. Casciato DA, Mowitz BB(Eds): Manual Of Clinical Oncology. Second Edition. Boston. Little, Brown And Co, 1988.
59. Johnson JA, Lalonde RL. Congestive Heart Failure. In: Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach. Second Edition. DiPiro JT, Talbert RL, Hayes PE, *et al* (Eds). Norwalk, CT, Appleton And Lange, 1993.
60. Gatell JM, Trilla A, Latorre X, *et al*. Nosocomial Bacteremia In A Large Spanish Teaching Hospital: Analysis Of Factors Influencing Prognosis. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 203-210.
61. Uzun O, Akalin HE, Hayran M, *et al*. Factors Influencing Prognosis In Bacteremia Due To Gram-Negative Organisms: Evaluation Of 448 Episodes In A Turkish University Hospital. *Clin Infect Dis* 1992;15: 866-873.
62. Dellinger EP, Wertz MJ, Meakins JL, *et al*: Surgical Infection Stratification System For Intra-Abdominal Infection. *Arch Surg* 1985; 120: 21-29.
63. Calandra T, Gerain J, Heumann D, *et al*. High Circulating Levels Of Interleukin-6 In Patients With Septic Shock: Evolution During Sepsis, Prognostic Value, And Interplay With Other Cytokines. *Am J Med* 1991; 91: 23-29.
64. Hilf M, Yu VL, Sharp J, *et al*. Antibiotic Therapy For *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: Outcome Correlations In A Prospective Study Of 200 Patients. *Am J Med* 1989; 87: 540-546.
65. Knaus WA, Sun X, Nystrom PO, *et al*. Evaluation Of Definitions For Sepsis. *Chest* 1992; 101: 1.656-1.662.
66. Knaus WA, Harrell FE, Fisher CJ, *et al*. The Clinical Evaluation Of New Drugs For Sepsis. A Prospective Study Design Based On Survival Analysis. *JAMA* 1993; 270: 1.233-1.241.

67. Bisbe J, Gatell JM, Puig J, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: Univariate And Multivariate Analyses Of Factors Influencing The Prognosis In 133 Episodes. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 629-635.
68. Ashkenazi S, Leibovici L, Samra Z, *et al.* Risk Factors For Mortality Due To Bacteremia And Fungemia In Childhood. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 949-951.
69. Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, *et al.* Endotoxemia In Human Septic Shock. *Chest* 1990; 99: 169-175.
70. Behre G, Schedel I, Nentwig B, *et al.* Endotoxin Concentration In Neutropenic Patients With Suspected Gram-Negative Sepsis: Correlation With Clinical Outcome And Determination Of Antiendotoxin Care Antibodies During Therapy With Polyclonal Immunoglobulin-M-Enriched Immunoglobulins. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2.139-2.146.
71. Wortel CH, Von Der Möhlen MAM, Van Deventer SJH, *et al.* Effectiveness Of A Human Monoclonal Antiendotoxin Antibody (HA-1A) In Gram-Negative Sepsis: Relationship To Endotoxin And Cytokine Levels. *J Infect Dis* 1992; 166: 1.367-1.374.
72. Debets JMH, Kampmeijer R, Van Der Linden MPMH, *et al.* Plasma Tumor Necrosis Factor And Mortality In Critically Ill Septic Patients. *Crit Care Med* 1989; 17: 489-494.
73. Damas P, Reuter A, Gysen P, *et al.* Tumor Necrosis Factor And Interleukin-1 Serum Levels During Severe Sepsis In Humans. *Crit Care Med* 1989; 17: 795-978.
74. Marks JD, Marks CB, Luce JM, *et al.* Plasma Tumor Necrosis Factor In Patients With Septic Shock: Mortality Rate, Incidence Of Adult Respiratory Distress Syndrome, And Effects Of Methylprednisolone Administration. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 94-97.
75. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, *et al.* Circulating Interleukin-1 And Tumor Necrosis Factor In Septic Shock And Experimental Endotoxin Fever. *J Infect Dis* 1990; 161: 79-84.

76. Calandra T, Baumgartner JD, Grau GE, *et al.* Prognostic Values Of Tumor Necrosis Factor/Cachectin, Interleukin-1, Interferon-Alfa, And Interferon-Gamma In The Serum Of Patients With Septic Shock. *J Infect Dis* 1990; 161: 982-987.
77. Muñoz C, Misset B, Fitting C, *et al.* Dissociation Between Plasma And Monocyte-Associated Cytokines During Sepsis. *Eur J Immunol* 1991; 21: 2.177-2.184.
78. Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, *et al.* The Complex Pattern Of Cytokines In Serum From Patients With Meningococcal Septic Shock: Association Between Interleukin 6, Interleukin 1, And Fatal Outcome. *J Exp Med* 1989; 169: 333-338.
79. Girardin E, Grau GW, Dayer JM. Tumor Necrosis Factor And Interleudin-1 In The Serum Of Children With Severe Infectious Purpura. *N Engl J Med* 1988; 319: 397-400.
80. Helfgott DC, Tatter SB, Santhanam U, *et al.* Multiple Forms Of IFN-Beta2/IL-6 In Serum And Body Fluids During Acute Bacterial Infection. *J Immunol* 1989; 142: 948-953.
81. Hack CE, Degroot ER, Felt-Bersma RJF, *et al.* Increased Plasma Levels Of Interleukin-6 In Sepsis. *Blood* 1989; 74: 1.704-1.710.
82. Guo Y, Dickerson C, Chrest FJ, *et al.* Increased Levels Of Circulating Interleukin 6 In Burm Patients. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 54: 361-371.
83. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma Cytokine And Endotoxin Levels Correlate With Survival In Patients With The Sepsis Syndrome. *Ann Intern Med* 1993; 119: 771-778.
84. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos P, Sirio CA, Murphy DJ, Lotring T, Amiano A, Harrel FE. The APACHE III Prognostic System. *Chest* 1991; 100: 1.619-1.936.
85. Lemeshow S, Teres D, Pastides H, *et al.* A Method For Predicting Survival And Mortality Of ICU Patients Using Objectively Derived Weights. *Crit Care Med* 1985; 13: 519-524

86. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A New Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) Based On A European/North American Multicenter Study. *JAMA* 1993; 270: 2.957-2.963.
87. Dellinger EP. Use Of Scoring Systems To Assess Patients With Surgical Sepsis. *Surg Clin North Am* 1988; 68: 123-145.
88. Nystrom PO, Bax R, Dellinger EP, *et al.* Proposed Definitions For Diagnosis, Severity Scoring, Stratification And Outcome For Trials On Intra-Abdominal Infection. *World J Surg* 1990; 14: 148-158.
89. Herbert PC, Drummond AJ, Singer J, Bernard GR, Russell JA. A Simple Multiple System Organ Failure Scoring System Predicts Mortality Of Patients Who Have Sepsis Syndrome. *Chest* 1993; 104: 230-235.
90. Stevens LE. Gauging The Severity Of Surgical Sepsis. *Arch Surg* 1983; 118: 1.190-1.192.
91. Fry DE, Pearlstein L, Fulton RL *et al.* Multiple System Organ Failure: The Role Of Uncontrolled Infection. *Arch Surg* 1980; 115: 136-140.
92. Fagon JY, Chastre J, Novara A, *et al.* Characterization Of Intensive Care Unit Patients Using A Model Based On The Presence Or Absence Of Organ Dysfunctions And/Or Infection: The ODIN Method. *Intensive Care Med* 1993; 19: 137-144.
93. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. Prognosis In Acute Organ-System Failure. *Arch Surg* 1985; 202: 685-693.
94. Elebute EA, Stoner HB. The Grading Of Sepsis. *Br J Surg* 1983; 70: 29-31.
95. Wacha H, Ungeheuer E, Gundlach E, *et al.* Value Of Clinical Peritonitis Score (A Prospective Study). *Z Gastroenterol* 1986; 24 (Suppl 1); 53-60.
96. Hershman MJ, Cheadle WG, Kuftinec D, *et al.* An Outcome Predictive Score For Sepsis And Death Following Injury. *Injury* 1988; 19: 263-266.
97. Guillou PJ: Biological Variation In The Development Of Sepsis After Surgery Or Trauma. *Lancet* 1993; 342: 217-220.

98. Baumgartner JD, Büla C, Vaney C, Wu M, Eggimann P, Perret C. A Novel Score For Predicting The Mortality Of Septic Shock Patients. *Crit Care Med* 1992; 20: 953-959.
99. Lemeshow S, Teres D, Avrunin JS, *et al.* A Comparison Of Methods To Predict Mortality Of Intensive Care Unit Patients. *Crit Care Med* 1987; 15: 715-722.
100. Barriere SL, Lowrny SF. An Overview Of Mortality Risk Prediction In Sepsis. *Crit Care Med* 1995; 23: 376-393.
101. Morrison PR; Edsall JT; Miller SG. Preparation And Properties Of Serum And Plasma Proteins. XVIII. The Separation Of Purified Fibrinogen From Fraction I Of Human Plasma. *J Am Chem Soc* 1948; 70: 3.103-1.108.
102. Mosseson MW, Umfleet RA. The Cold-Insoluble Globulin Of Human Plasma. I. Purification, Primary Characterization And Relationship To Fibrinogen And Other Cold-Insoluble Fraction Components. *J Biol Chem* 1970; 245: 5.728.
103. Saba TM, Filkins JP, Di Luzio NR. Properties Of The "Opsonic System" Regulating In Vitro Hepatic Phagocytosis. *J Reticuloendothelial Soc* 1966; 3: 398.
104. Saba TM, Di Luzio NR. Kupffer Cell Phagocytosis And Metabolism Of Particles As A Function Of Opsonization. *J Reticuloendothelial Soc* 1965; 2: 437.
105. Saba TM. Physiology And Pathophysiology Of The Reticuloendothelial System. *Arch Intern Med* 1970; 126: 1031.
106. Blumenstock FA, Saba RM, Weber P, Cho E. Purification And Biochemical Characterization Of A Macrophage Stimulating α -2-Globulin Opsonic Protein. *J Reticuloendothelial Soc* 1976; 19: 157.
107. Blumenstock FA, Saba TM. Purification Of α -2-Opsonic Glycoprotein From Human Serum And Its Measurement By Immunoassay. *J Reticuloendothelial Soc* 1978; 23: 119.
108. Ruoslahti E, Vaheri A, Kuusela P, Linder A. Fibroblast Surface Antigen: A New Serum Protein. *Biochim Biophys Acta* 1973; 322: 352-358.
109. Blumenstock F, Weber P, Saba TM. Isolation And Biochemical Characterization Of α -2- Opsonic Glucoprotein Form Serum. *J Biol Chem* 1977; 252: 7.156.

110. Wolff I, Timpl R, Pecker I, Steffen C. A Two-Component System Of Human Serum Agglutinating Gelatin-Coated Erythrocytes. *Vox Sang* 1967; 12: 443.
111. Gahmberg CG, Hakomori S. Altered Growth Behavior Of Malignant Cells Associated With Changes In External Leveled Glycoprotein And Glycolipid. *Proc Nat Acad Sci USA* 1973; 70: 3.329-3.333.
112. Klebe RJ. Isolation Of A Collagen-Dependent Cell Attachment Factor. *Nature* 1974; 250: 248.
113. Hynes RO, Bye J. Density And Cell Cycle Dependence Of Cell Surface Proteins In Hamster Fibroblasts. *Cell* 1974; 3: 113.
114. Proctor RA. Fibronectin: A Brief Of Its Structure, Function, And Physiology. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S317-321.
115. Baughn RE. Role Of Fibronectin In The Pathogenesis Of Syphilis. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S372-385.
116. Saba TM, Jaffe E. Plasma Fibronectin (Opsonic Glycoprotein):Its Syntesis By Vascular Endothelial Cells And Role In Cardipulmonary Integrity After Trauma As Related To Reticuloendothelial Function. *Am J Med* 1980; 68: 577-594.
117. Oh E, Pierschbacher M, Ruoslahti E. Deposition Of Plasma Fn In Tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 3.218-3.221.
118. Deno DC, Saba TM, Lewis EP. Kinetics Of Endogenously Labeled Plasma Fn Incoporation Into Tissues. *Am J Physiol* 1983; 245: R564-575.
119. Ruoslahti E, Engvall E, Hayman EG. Fibronectin: Current Concepts Of Its Structure And Functions. *Cell Res* 1981; 1: 95-128.
120. Hynes RO, Destree A. Extensive Disulfide Bonding At The Mammalian Cell Surface. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 2.855.
121. Mosher DF. Cross-Linking Of Cold-Insoluble Globulin By Fibrin-Stabilizing Factor. *J Biol Chem* 1976; 250: 6.614.
122. Keski-Oja J, Mosher DF, Vaheri A. Cross-Linking Of A Major Fibroblast Surface-Associated Glycoprotein (Fibronectin) Catalyzed By Blood Coagulation Factor XIII. *Cell* 1976; 9: 29.

123. Singer II. The Fibronexus; A Transmembrane Association Of Fn-Containing Fibers And Bundles Of 5-nm Microfilaments In Hamster And Human Fibroblasts. *Cell* 1979; 16: 675-85.
124. Hedman K, Kurkinen M, Alitalo K, Vaheri A, Johansson S, Höök M. Isolation Of The Pericellular Matrix Of Human Fibroblast Cultures. *J Cell Biol* 1979; 81: 83-91.
125. Mckeown-Longo PJ, Mosher DF. Mechanism Of Formation Of Disulfide-Bonded Multimers Of Plasma Fn In Cell Layers Of Cultured Human Fibroblasts. *J Biol Chem* 1984; 259: 12.210-12.215.
126. Carter WG, Hakomori S. A New Cell Surface, Detergent Insoluble Glycoprotein Matrix Of Human And Hamster Fibroblasts: The Role Of Disulfide Bonds In Stabilization Of The Matrix. *J Biol Chem* 1981; 256: 6.953-6.966.
127. Choi MG, Hynes RO. Biosynthesis And Processing Of Fn In NIL8 Hamster Cells. *J Biol* 1979; 83: 255-259.
128. Mckeown-Longo PJ. Fibronectin-Cell Surface Interactions. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S322-334.
129. Tamkun JW, Desimone DW, Fonda D, *et al.* Structure Of Integrin, A Glycoprotein Involved In The Transmembrane Linkage Between Fibronectin And Actin. *Cell* 1989; 46: 271-282.
130. Hynes RO, Yamada KM. Fibronectins: Multifunctional Modular Glycoproteins. *J Cell Biol* 1982; 95: 369-377.
131. Chen WT, Greve JM, Gottlieb DI, Singer SJ. Immunocytochemical Localization Of 140 Kd Cell Adhesion Molecules In Cultured Chicken Fibroblasts, And In Chicken Smooth Muscle And Intestinal Epithelial Tissues. *J Histochem Cytochem* 1985b; 33: 576-586.
132. Humbría A, García De Vicuña R, Díaz-Gonzalez F. Integrinas: Importancia De La Adhesión Celular. *Med Clín* 1990; 95: 630-634.
133. Hynes RO. Integrins: A Family Of Cell Surface Receptors. *Cell* 1987; 48: 549-554.

134. Shoukat D. Regulation Of Expression Of The Cell Adhesion Receptors, Integrins, By Recombinant Human Interleukin-1 Beta In Human Osteosarcoma Cells: Inhibition Of Cell Proliferation And Stimulation Of Alkaline Phosphatase Activity. *J Cell Physiol* 1989; 138: 291-299.
135. Danilov YN, Juliano RL. Phorbol Ester Modulation Of Integrin-Mediated Cell Adhesion: A Post-Receptor Event. *J Cell Biol* 1989; 108: 1.925-1.933.
136. Fath KR, Edgell CJS, Burringde K. The Distribution Of Distinct Integrins In Focal Contacts Is Determined By The Substratum Composition. *J Cell Sci* 1989; 92: 67-75.
137. Brodin B, Von Schenck H, Schildt B, Liljedahl SO. Low Plasma Fibronectin Indicates Septicaemia In Major Burns. *Acta Chir Scand* 1984; 150: 5-11.
138. Diaz J, Arribas JM, Vallina E, Maradona JA, Hevia C, Blanco F. Reactantes De Fase Aguda En La Sepsis. *Rev Clin Esp* 1992; 191: 473-477.
139. Proctor RA. Fibronectin: An Enhancer Of Phagocyte Function. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S412-419.
140. Wyler DJ. Fibronectin In Parasitic Diaseases. *Rev Infec Dis* 1987 ;9: (Suppl 4): S391-399.
141. Llena Puy MC. Fibronectina Y Otras Proteínas Reactantes De Fase Aguda En Hepatopatías. Tesis Doctoral. Universidad De Zaragoza, 1983.
142. Yamada KM, Yamada SS, Pastan I. The Mayor Cell Surface Glycoprotein Of Chick Embryo Fibroblast Is An Agglutinin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3.158.
143. Der CJ, Stanbridge EJ. Lack Of Correlation Between The Decreased Expression Of Cell Surface LETS Protein And Tumorigenicity In Human Cell Hybrids. *Cell* 1978; 15: 1.241.
144. Di Luzio NR, Miller E, Mcnamee R, Pisano JC. Alterations In Plasma Recognition Factor Activity In Experimental Leukemia. *J Reticuloendothelial Soc* 1972; 11: 186.
145. Di Luzio NR. Macrophages, Recognition Factors And Neoplasia. In: *RES System; International Academy Of Pathology Monograph*, Baltimore: Williams & Wilkins Co, 1975:49-64.

146. Saba RM, Antikatzides R. Humoral Mediated Macrophage Response During Tumor Growth. *Br J Cancer* 1975; 32: 471.
147. Blumenstock FA, Valeri CR, Saba TM, Cho E, Melaragno A, Gray A, Lewis M. Progressive Lost Of Fibronectin-Mediated Opsonic Activity In Plasma Cryoprecipitate With Storage. Role Of Fibronectin Fragmentation. *Vox Sang* 1988; 54: 129-137.
148. Stevens LE, Clemmer TP, Laub RM, Miya F, Robbins L. Fibronectin In Severe Sepsis. *Surg Gyn Obs* 1986; 162: 222-228.
149. Proctor RA. The Staphylococcal Fibronectin Receptor: Evidence For Its Importance In Invasive Infections. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S335-340.
150. Aly R, Levit S. Adherence Of *Staphylococcus aureus* To Squamous Epithelium: Role Of Fibronectin And Teichoic Acid. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S341-350.
151. Proctor RA, Christman G, Mosher DF. Fibronectin-Induced Agglutination Of *S. aureus* Correlates With Invasiveness. *J Lab Clin Med* 1984; 104: 455-69.
152. Simpson WA, Courtney HS, Ofek I. Interactions Of Fibronectin With Streptococci: The Role Of Fibronectin As A Receptor For *Streptococcus pyogenes*. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S351-359.
153. Simpson WA, Hasty DL, Mason JM, Beachey EH. Fibronectin-Mediated Binding Of Group A Streptococci To Human Polymorphonuclear Leucocytes. *Infect Immun* 1982; 37: 805-810.
154. Myhre EB, Kuusela P. Binding Of Human Fibronectin To Group A, C And G Streptococci. *Infect Immun* 1983; 40: 29-34.
155. Babu JP, Simpson WA, Courtney HS, Beachey EH. Interaction Of Human Plasma Fn With Cariogenic And Noncariogenic Oral Streptococci. *Infect Immun* 1983; 41: 162-168.
156. Imai S, Okahashi N, Koga T. Ability Of Various Oral Bacteria To Bind Human Plasma Fn. *Microbiol Immunol* 1984; 28: 863-71.
157. Keski-Oja J, Hautanen A, Julkunen I. Fibronectin And Viral Pathogenesis. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S404-411.

158. Calderone RA, Scheld WM. Role Of Fibronectin In The Pathogenesis Of Candidal Infections. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S400-403.
159. Hamill RJ. Role Of Fibronectin In Infective Endocarditis. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S360-371.
160. Simpson WA, Hasty DL, Beachey EH. Binding Of Fn To Human Buccal Epithelial Cells Inhibits The Binding Of Type 1 Fimbriated *E.coli*. *Infect Immun* 1985; 48: 318-323.
161. Van De Water L, Destree AT, Hynes RO. Fibronectin Binds To Some Bacteria But Does Not Promote Their Uptake By Phagocytic Cells. *Science* 1983; 220: 201-204.
162. Abraham SN, Beachey EH, Simpson WA. Adherence Of *S.pyogenes*, *E.coli* And *P.aeruginosa* To Fn-Coated And Uncoated Epithelial Cells. *Infect Immun* 1983; 41: 1261-1268.
163. Vercellotti GM, Lussenhop D, Peterson PK. Bacterial Adherence To Fn And Endothelial Cells: A Possible Mechanism For Bacterial Tissue Tropism. *J Lab Clin Med* 1984; 103:34-43.
164. Stanislawski L, Simpson WA, Hasty D, Sharon N. Role Of Fn Attachment Of *S.pyogenes* And *E.coli* To Human Cell Lines And Isolated Oral Epithelial Cells. *Infect Immun* 1985; 48: 257-259.
165. Woods DE. Role Of Fibronectin In The Pathogenesis Of Gram-Negative Bacillary Pneumonia. *Rev Infec Dis* 1987; 9: (Suppl 4): S386-390.
166. Woods DE, Straus DC, Johanson WG Jr, Bass JA. Role Of Fn In The Prevention Of Adherence Of *P.aeruginosa* To Buccal Cells. *J Infect Dis* 1981; 143:784-9.
167. Klainer AS, Perkins RL. Surface Manifestations Of Antibiotic-Induced Alterations In Protein Synthesis In Bacterial Cells. *Antimicrob Agents Chemoter* 1972; 1: 164-70.
168. Sud IJ, Feingold DS. Detection Of Agents That Alter The Bacterial Cell Surface. *Antimicrob Agents Chemoter* 1975; 8: 34-37.
169. Stathakis N, Fountas A, Tesianos E. Plasma Fibronectin In Normal Subjects And In Various Diseases States. *J Clin Pathol* 1981; 34: 504-508.

170. Forkman B, Ganrot PO, Gennser G, Rannevik G. Plasma Protein Pattern In Recurrent Cholestasis Of Pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; 29 (Supl 124): 89-86.
171. Dominioni L, Dionigi R, Zanello M, *et al.* Sepsis Score And Acute-Phase Protein Response As Predictor Of Outcome In Septic Surgical Patients. *Arch Surg* 1987; 122: 141-146.
172. Lemeshow S, Klar J, Teres D, Avrunin JS, Gehlbach, Papoport J, Rue M. Mortality Probability Models For Patients In The Intensive Care Unit For 48 Or 72 Hours: A Prospective Multicenter Study. *Crit Care Med* 1994; 22: 1.351-1.358.
173. Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, *et al.* Sepsis Syndrome: A Valid Clinical Entity. *Crit Care Med* 1989; 17: 389-394.
174. Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, *et al.* APACHE- Acute Physiology And Chronic Health Evaluation: A Physiologically Based Classification System. *Crit Care Med* 1981; 9: 591-597.
175. Skau T, Nystrom PO, Carlsson C. Severity Of Illness In Intraabdominal Infection. *Arch Surg* 1985; 120: 152-158.
176. Le Gall JR, Loirat P, Alperovitch A, Galser P, Granthil C, Mathieu D, Mercier P, Thomas R, Villers D. A Simplified Acute Physiology Score For ICU Patients. *Crit Care Med* 1984; 12: 975-977.
177. Keene AR, Cullen DJ. Therapeutic Intervention Scoring System: Update 1983. *Crit Care Med* 1983; 11: 1-3.
178. Horst HM, Mild LJ, Obeid FN, *et al.* The Relationship Of Scoring Systems And Mortality In The Surgical Intensive Care Unit. *Am Surgeon* 1987; 53: 456-459.
179. Cullen DJ, Keene AR, Waternaux C, *et al.* Objective, Quantitative Measurement Of Severity Of Illness In Critically Ill Patients. *Crit Care Med* 1984; 12: 155-160.
180. Arregui LM, Moyes DG, Lipman J, Fatti LP. Comparison Of Disease Severity Scoring Systems In Septic Shock. *Crit Care Med* 1991; 19: 1.165-1.171.
181. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: A Severity Of Disease Classification System. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829.

182. Teichmann W, Wittmann DH, Andreone PA. Scheduled Reoperations For Diffuse Peritonitis. Arch Surg 1986; 121: 147-152.
183. Ramphal R, Pyle M. Further Characterization Of The Tracheal Receptor For *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol 1985; 4: 160-162.
184. Woods DE, Bass JA, Johanson WG Jr, Straus DC. Role Of Adherence In The Pathogenesis Of *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection In Cystic Fibrosis Patients. Infect Immun 1980; 30: 694-699.
185. Woods DE, Straus DC, Johanson WG, Bass JA. Role Of Salivary Protease In Adherence Of Gram-Negative Bacilli To Mammalian Buccal Epithelial Cells *in vivo*. J Clin Invest 1981;68:1.435-4.440.
186. Grossman J, Pohlman T. Plasma Fibronectin Concentration In Animal Models Of Sepsis And Endotoxemia. J Surg Res 1983; 34: 145-50.
187. Velky TS, Yang JC. Plasma Fibronectin Response To Sepsis: Mobilization Or Syntesis? J Trauma 1984; 24: 824-829.
188. Pussell BA, Peake PW, Brown MA, Charlesworth JA. Human Fibronectin Metabolism. J Clin Invest 1985; 76: 143-148.
189. Novo C, Puiros J, Ais JG, Gonzalez JM, Lopez-Novoa JM, Romeo JM. Plasma Fibronectin In Acute Peritonitis And Sepsis In Conscious Rats. Res Surg 1992; 4: 192-194.
190. Ais JG. Alteraciones Hemodinámicas En Un Modelo De Pancreatitis Aguda Experimental. Aspectos Fisiopatológicos Y Terapéuticos. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma De Madrid 1990.
191. Mccafferty MH, Saba TM. Comparative Influence Of Blood-Borne Particles And *Staphylococcus aureus* On Fibronectin, Complement And Inmumoglobulin. Ann Surg 1982; 194: 715-9.
192. Mosher DF. Changes In Plasma Cold-Insoluble Globulin Concentration During Experimental Rocky Mountain Spotted Fever Infection In Rhesus Monkeys. Thromb Res 1976; 9: 37-45.

193. Loegering DJ, Schneidkraut MJ. Effect Of Endotoxin On A 2 SB-Opsonic Protein Activity And Reticuloendothelial System Phagocytic Function. *J Reticuloendothel Soc* 1976; 26: 197-204.
194. Kaplan JE, Scovill WA. Reticuloendothelial Phagocytic Response To Bacterial Challenge After Traumatic Shock. *Circ Shock* 1977; 4: 1-12.
195. Richards PS, Saba TM. Effect Of Endotoxin On Fibronectin And Kupffer Cell Activity. *Hepatology* 1985; 5: 32-7.
196. Scovill WA, Saba TM, Kaplan JE, Bernard H, Powers S. Deficits In Reticuloendothelial Humoral Control Mechanism In Patients After Trauma. *J Trauma* 1976; 16: 898-904.
197. Mosher DF, Williams EM. Fibronectin Concentration Is Decreased In Plasma Of Severely Ill Patients With Disseminated Intravascular Coagulation. *J Lab Clin Med* 1978; 91: 729-735.
198. Brodin B, Berghem L, Friberg-Nielsen S, Nordström H. Fibronectin In The Treatment Of Septicaemia-A Preliminary Report (Abstract N° 1131). In: Erlangen ER, Kiel JW, Düsseldorf MZ. Intern World Congress Series. N°533. Amsterdam: Excerpta Medica 1980: 504.
199. Pott G, Voss B, Lohmann J, Zündorf P. Loss Of Fibronectin In Plasma Of Patients With Shock And Septicaemia And After Haemoperfusion In Patients With Severe Poisoning. *J Clin Chem Biochem* 1982; 20: 333-335.
200. Coulaud JM, Labrousse J, Salmona JP, Tenailon A, Lissac J, Jacqueson A, Beyne P, Rapin J, Allard D, Jerome H. Plasma Fibronectin Concentrations In Critically Ill Patients. *Ric Clin Lab* 1982; 12: 137-141.
201. Maunder RJ, Harlan JM, Pepe PE, Paskell S, Carrico CJ, Hudson LD. Measurement Of Plasma Fibronectin In Patients Who Develop The Adult Respiratory Distress Syndrome. *J Lab Clin Med* 1984; 104: 583-590.
202. Richards WO, Scovill WA, Shin B. Opsonic Fibronectin Deficiency In Patients With Intra-Abdominal Infection. *Surgery* 1983; 94: 210-217.

203. Rubli E, Büssard S, Frei E, Lundsgaard-Hansen P, Pappova E. Plasma Fibronectin And Associated Variables In Surgical Intensive Care Patients. *Ann Surg* 1983; 197: 310-317.
204. Goldman AS, Rudloff HB, Mcnamee R, Loose LD, Diluzio NR. Deficiency Of Plasma Humoral Recognition Factor Activity Following Burn Injury. *J Reticuloendothel Soc* 1974; 15: 193-198.
205. Lanser ME, Saba TM, Scovill WA. Opsonic Glycoprotein (Plasma Fibronectin) Levels After Burn Injury: Relationship To Extent Of Burn And Development Of Sepsis. *Ann Surg* 1980; 192: 776-782.
206. Ekindjian OG, Murien M, Wasserman D, Bruxelle J, Cazalet C, Konter E, Yonger J. Plasma Fibronectin Time Course In Burn Patients; Influence Of Sepsis. *J Trauma* 1984; 24: 214-219.
207. Boughton BJ, Simpson A. Plasma Fibronectin In Acute Leukaemia. *Br J Haematol* 1982; 51: 487-491.
208. Coate JJ, Mosher DF. Fibronectin Concentration In Plasma Of Patients With Breast Cancer, Colon Carcer, And Acute Leukemia. *Cancer* 1983; 51: 1.142-1.147.
209. Grossman JE, Will L, Hahn N, Exten R, Garber C, Mosher D. Plasma Fibronectin In Critical Illness (Abstract). *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 95.
210. O'Connel MT, Becker DM, Steele VW, Peterson GS, Hellman RL. Plasma Fibronectin In Medical ICU Patients. *Crit Care Med* 1984; 12: 479-482.
211. Dyke MP, Forsyth KD. Decreased Plasma Fibronectin Concentrations In Preterm Infants With Septicaemia. *Arch Dis Child* 1993; 68: 557-560.
212. Edwards MS, Rench MA, Hall MA, Baker CJ. Fibronectin Levels In Premature Infants With Late-Onset Sepsis. *Jour Perinatol* 1993; 13: 8-13.
213. Gerdes JS, Yorder MC, Douglas SD, Polin RA. Decreased Plasma Fibronectin In Neonatal Sepsis. *Pediatrics* 1983; 72: 877-881.
214. Koenig JM, Patterson LER, Rench MA, Edwards MS. Role Of Fibronectin In Diagnosing Bacterial Infection In Infancy. *Am J Dis Child*; 142: 884-887.

215. Brodin B, *et al.* Prophylactic Administration Of Cryoprecipitate To Patients Prone To Develop Fibronectin Deficiency And Septicaemia (Abstract). In: Abstracts Of The 18th Congress Of The International Society Blood Transfusion. Basel:Karger, 1984: 46.