



Universidad de Oviedo

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y
BIOLOGÍA MOLECULAR

Programa de Doctorado en Biología Molecular y
Celular

Determinación de Interleukina-6 (IL-6) y fragmento
de la región media de la proadrenomedulina (MR-
proADM) en líquidos biológicos: Utilidad clínica en
procesos infecciosos

Pablo García Hernández

Oviedo, 2017

**RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL**

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Determinación de Interleukina-6 (IL-6) y fragmento de la región media de la proadrenomedulina (MR-proADM) en líquidos biológicos: Utilidad clínica en procesos infecciosos	Inglés:
2.- Autor	
Nombre: PABLO GARCÍA HERNÁNDEZ	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: Biología Molecular y Celular	
Órgano responsable: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular	

RESUMEN (en español)

Las enfermedades infecciosas son las más frecuentes de todas las entidades de la patología médica, aunque muchas de ellas sean leves o casi subclínicas. La meningitis y neumonía son dos entidades infecciosas que presentan una gran trascendencia en nuestro entorno sociosanitario.

El cultivo microbiológico es considerado el “patrón de oro” en el diagnóstico de dichas enfermedades. Sin embargo, es un método que presenta baja sensibilidad y elevado tiempo de respuesta, por lo que se recurre a parámetros bioquímicos cuantificados en líquido cefalorraquídeo (LCR), en el caso de la meningitis, y de líquido pleural (LP) para ayudar a un diagnóstico temprano.

El objetivo de la presente Tesis Doctoral fue evaluar dos marcadores relacionados con la infección y la sepsis: Interleukina-6 (IL-6) y el fragmento de la región media de la proadrenomedulina (MR-proADM). Dichos marcadores fueron cuantificados en muestras de líquidos biológicos, recibidos con fines asistenciales en el Laboratorio de Respuesta Rápida del Hospital Universitario Central de Asturias de Oviedo. El diseño del trabajo fue un estudio de corte transversal con evaluación retrospectiva. La IL-6 fue cuantificada en LCR procedentes de 150 pacientes a los que se les practicó una punción lumbar. Tanto MR-proADM como IL-6 se evaluaron en 188 muestras de LP obtenidos por toracocentesis.

Se evaluó la capacidad discriminante de la IL-6, medida en LCR, para diagnóstico de meningitis bacteriana tomando como referencia los casos en que existía una confirmación con cultivo microbiológico positivo. Como grupos de comparación se evaluaron: pacientes con meningitis bacteriana sin confirmación microbiológica, pacientes con meningitis vírica y pacientes con patologías no infecciosas. Se describió que la IL-6 presentaba un área bajo la curva de rendimiento diagnóstico de 0,937, significativamente superior a la de los marcadores clásicos: recuento leucocitario, glucosa y proteínas. Para un punto de corte de 15060 pg/mL de IL-6, se demostró una especificidad diagnóstica del 96,7% y una sensibilidad del 63,6%, superiores a las de los marcadores clásicos con los puntos de corte recomendados por las guías clínicas.

En la neumonía, IL-6 mostró un comportamiento análogo al descrito en la meningitis, con una capacidad diagnóstica de 0,840, superior a LDH (0,825) o leucocitos (0,805).



Asimismo, se validó la determinación de MR-proADM, mediante tecnología TRACE, (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission) en LP y se evaluó la capacidad que podían aportar ambos marcadores a la hora de diferenciar trasudado de exudado, en comparación con los criterios de Light u otros criterios alternativos.

IL-6 no aportó utilidad pronóstica a la hora de identificar los pacientes con desenlace adverso (secuelas graves o mortalidad), para ninguna de las dos patologías infecciosas estudiadas. Sin embargo, MR-proADM mostró cierta correlación con las escalas predictivas empleadas en el manejo de pacientes de neumonía (FINE y CURB-65), así como con el desenlace adverso de mortalidad en el subgrupo de pacientes neoplásicos.

RESUMEN (en Inglés)

Infectious diseases are the most frequent of all medical pathologies, although many of them can exhibit mild or nearly subclinical presentation. Meningitis and pneumonia are two infectious entities which have a great significance in our healthcare environment. Although microbiological culture is considered the “gold standard” in the diagnosis of these diseases, due to its low sensitivity and high time-around time, biochemical parameters are often needed to help early diagnosis, measured in cerebrospinal fluid (CSF), for meningitis, or pleural fluid (PF), in the case of pneumonia.

The present work aimed to evaluate two markers related to infection and sepsis: interleukin-6 (IL-6) and the mid region of proadrenomedullin (MR-proADM). These markers were measured in biological fluids received for medical purposes at the Laboratory of Emergencies from the Hospital Universitario Central de Asturias, in Oviedo.

Experimental work was designed as a transversal retrospective study. IL-6 was measured in CSF from 150 patients that underwent lumbar puncture. Both MR-proADM and IL-6 were measured in 188 samples of PF obtained by thoracocentesis. The discriminant power of IL-6 in CSF for the diagnosis of bacterial meningitis was evaluated, those cases confirmed by a positive microbiological culture being considered as a reference. The following comparison groups were also evaluated: patients without microbiological confirmation of bacterial meningitis, patients with viral meningitis and patients with non-infectious pathologies. We have described that IL-6 showed an area under the curve of diagnostic performance of 0,937, significantly higher than classical markers: leukocyte count, glucose and proteins. A cutoff point of 15060 pg/mL of IL-6 in CSF showed a diagnostic specificity of 96,7% and sensitivity of 63,6%, both of them higher than those of classical markers at the cutoff point recommended by the clinical guidelines.

Similarly, in pneumonia, IL-6 measured in PF showed better performance than classic markers, with a diagnostic power of 0,840, higher than that of LDH (0,825) or leukocyte count (0,805).

Likewise, the measurement of MR-proADM was validated in PF, by TRACE technology, and both markers were evaluated in terms of their ability to differentiate trasudate from exudate, in comparison with Light or alternative criteria.

Finally, IL-6 did not show prognostic usefulness to identify patients with adverse outcomes (severe consequences or mortality), for any of the studied infectious diseases. However, PF MR-proADM showed moderate correlation with predictive scales used in pneumonic patients (FINE and CURB-65), as well as with adverse outcome such as mortality in the subgroup of neoplastic patients.

AGRADECIMIENTOS

La elaboración del presente trabajo no ha sido una tarea sencilla. Ha sido un recorrido de esfuerzo y superación, lleno tanto de obstáculos como de satisfacciones. A lo largo de este camino han sido varias las personas me han acompañado, ya sea con su participación directa, o bien dándome su apoyo, en algunos casos incluso desde la lejanía. Sin la colaboración de todas estas personas, la realización de este proyecto no habría sido posible.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de tesis, Belén Prieto y Franciso Álvarez su esfuerzo, y dedicación a lo largo de estos años. Desde que en el año 2011 llegué al Servicio de Bioquímica, en calidad de residente, ellos siempre creyeron en mí, y me dieron esta oportunidad y su voto de confianza. También quiero agradecerles su paciencia, y especialmente, el tiempo y esfuerzo que le han dedicado, incluso fuera de sus horarios de trabajo.

Quiero agradecer igualmente a las casas comerciales Roche Diagnostics y Brahms por su contribución en el proyecto aportando los reactivos necesarios para llevarlos a cabo.

A Verónica Rodríguez, por el apoyo logístico en la alicuotación y conservación de las muestras.

A Eduardo Martínez, por su labor docente durante los últimos años en la residencia, por sus consejos a la hora de elaborar artículos científicos, y por su ayuda en las comunicaciones a congresos. Gracias también por tu apoyo, interés y ganas de ayudar con todos los proyectos en los que he estado involucrado.

A María García, por ser siempre una referencia y un apoyo para solucionar los problemas; tanto desde el día fuiste mi R-4 hasta la actualidad, en la que nos hemos enfrentado a los mismos obstáculos en la elaboración de nuestras respectivas tesis.

A todos mis compañeros de residencia, por todos los momentos compartidos juntos. Especialmente quiero agradecer a Indira, con quien más tiempo pude compartir, el haber sido un modelo a seguir en todos los aspectos, tanto académicos como aquellos fuera del ámbito laboral. Igualmente quiero agradecer a Edwin su aportación al presente trabajo ofreciendo su visión y su participación, apoyándome en la resolución de preguntas relacionadas con la medicina.

Deseo agradecer también al resto del personal del Servicio de Bioquímica Clínica su aportación en este trabajo, tanto al personal facultativo como a técnicos de laboratorio. Todos habéis participado en algún momento ya sea de forma directa, procesando alguna muestra, o bien de forma indirecta, aportando vuestros conocimientos, y sobretodo, vuestro valor humano. Gracias a vosotros me he sentido querido cada vez que os visitaba una vez acabada la residencia.

A mi familia, especialmente a mis padres, Joaquín y Ángela; gracias a la educación y valores que me dieron desde mi infancia, he conseguido alcanzar todas mis metas a lo largo de la vida. Con ellos he compartido todos mis éxitos y fracasos. Ellos siempre han estado allí, incluso desde la distancia, apoyándome en todo lo que hacía.

A mi hermana, Ana, gracias por enseñarnos a afrontar con valor las adversidades de la vida, y con su ejemplo demostrarnos que siempre hay una salida, por muy dura o difícil que parezca.

A Sara, por ser la luz que me iluminó en los momentos más oscuros, cuando las demás luces se apagaron. Sin ella este proyecto jamás se podría haber convertido en una realidad. No hay palabras para poder mostrar mi agradecimiento.

A mi tío Jesús, por ser un ejemplo de lo que un hombre de ciencias debe ser, y por sus consejos las pocas veces que tuvimos la ocasión de vernos.

A mis amigos, especialmente a Santiago, porque al lo largo de estos años de amistad me enseñó que todo aquello que requiere un esfuerzo no debe intentarse. Debe hacerse, o directamente no hacerse, pero nunca intentarlo.

A Alejandro, Alberto, Pedro, Ramón, Sergio y demás amigos que dejé atrás en Madrid. Gracias a vosotros hacéis que la distancia entre no sea un obstáculo y pueda compartir buenos momentos con vosotros como si estuvierais a mi lado.

Índice

LISTA DE ABREVIATURAS	17
INTRODUCCIÓN	19
1.- PROCESOS INFECCIOSOS.....	20
2.- MENINGITIS.....	23
2.1 CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN	23
2.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	24
2.3 PRESENTACIÓN CLÍNICA, DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO.....	25
3.- NEUMONÍA	27
3.1 CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN	27
3.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	30
3.3 PRESENTACIÓN CLÍNICA, DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO.....	30
4.- PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LÍQUIDOS BIOLÓGICOS.....	34
4.1.- PRUEBAS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	34
4.2.- RECUENTO CELULAR	35
4.3.- PARÁMETROS BIOQUÍMICOS CLÁSICOS	37
4.3.1.- <i>Glucosa</i>	37
4.3.2.- <i>Proteínas totales</i>	37
4.3.3.- <i>Lactato deshidrogenasa (LDH)</i>	39
4.3.4.- <i>Otros parámetros bioquímicos</i>	40
4.3.4.1- <i>Albumina</i>	40
4.3.4.2.- <i>pH</i>	41
4.3.4.3.- <i>Colesterol</i>	42
4.4.- <i>Marcadores de infección</i>	43

4.4.1.- Proteína C Reactiva (PCR)	43
4.4.2.- Procalcitonina (PCT) sérica	44
4.4.3- Adenosina desaminasa (ADA).....	47
5.- INTERLEUKINA-6.....	49
5.1.- IL-6 EN LAS ENFERMEDADES NO INFECCIOSAS	50
5.2- IL-6 Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS	51
6.- MR-PROADM (FRAGMENTO DE LA REGIÓN MEDIA DE PROADRENOMEDULINA)	53
JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.....	57
1.- JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	58
2.- HIPÓTESIS.....	59
OBJETIVOS.....	60
OBJETIVO PRINCIPAL.....	60
OBJETIVOS SECUNDARIOS	60
MATERIAL Y MÉTODOS	61
1.- DISEÑO DEL ESTUDIO	62
1.1.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN	62
1.2.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	63
1.3.- POBLACIÓN DE ESTUDIO	64
1.3.1.- Estudio de marcadores para el diagnóstico de meningitis bacteriana.	64
1.3.2.- Estudio de marcadores para el diagnóstico de NAC	66
1.4.-ESTUDIO DE UTILIDAD PRONÓSTICA DE IL-6 EN LCR	67
1.5.- ESTUDIO DE UTILIDAD DE MARCADORES EN LP PARA DIFERENCIACIÓN ENTRE EXUDADO Y TRASUDADO...	68
1.6 TRATAMIENTO PREANALÍTICO DE LAS MUESTRAS	68

2.- DEFINICIONES CLÍNICAS.....	69
3.- VARIABLES RECOGIDAS DURANTE EL ESTUDIO	70
3.1.- VARIABLES DE SELECCIÓN	70
3.2.- VARIABLES RECOGIDAS DE LAS HISTORIAS CLÍNICAS	71
4.- MÉTODOS ANALÍTICOS.....	74
4.1.- IL-6	74
4.2.- MR-PROADM.....	75
5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	77
RESULTADOS	79
1.- IL-6 COMO MARCADOR DE DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS BACTERIANA AGUDA	80
1.1.- CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	80
1.2.- EFECTOS DE LA ANTIBIOTERAPIA.....	82
1.3.- MARCADORES DE MENINGITIS EN LCR	84
2.- IL-6 Y MR-PROADM COMO MARCADORES DE DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE NAC.....	89
2.1.- CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	89
2.1.1.- Factores de riesgo	90
2.1.2.- Estudio microbiológico y efectos de la antibioterapia	90
2.1.3.- Evaluación del riesgo en pacientes NAC	92
2.2.- IL-6 COMO MARCADOR DIAGNÓSTICO DE NEUMONÍA	93
2.3.- ESTUDIO DE VALIDACIÓN DE LA MEDIDA DE MR-PROADM EN LP	101
2.4.- OTROS USOS DE IL-6 Y MR-PROADM EN LP	102
2.5.- MR-PROADM COMO MARCADOR DIAGNÓSTICO DE NEUMONÍA	107
2.6.- ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....	111
2.7.- IL-6 Y MR-PROADM COMO MARCADORES DE PRONÓSTICO	114

2.7.1.- Características de la población	114
2.7.2.- IL-6 y MR-proADM como marcador de pronóstico	116
DISCUSIÓN	119
1.- IL-6 EN LCR	120
2.- MARCADORES EN LP.....	130
2.1.- IL-6 EN LP	131
2.2.- MR-PROADM EN LP	137
CONCLUSIONES	143
BIBLIOGRAFÍA	144

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA: Adenosina desaminasa

ADM: Adrenomedulina

ADN: Ácido desoxirribunucleico

AEMPS: Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios

AINES: Antiinflamatorios no esteroideos

AR: Artritis reumatoide

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

CV: Coeficiente de variación

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

IIC: Intervalo intercuartílico

IL: Interleukina

LCR: Líquido Cefalorraquídeo

LDH: Lactato deshidrogenasa

LP: Líquido Pleural

LSN: Límite superior de normalidad

MALDI-TOF: Matrix-assisted laser desorption/ionization -time of flight

MM: Muestra matriz

MR-proADM: región media de la molécula de proadrenomedulina

NAC: Neumonía adquirida en la comunidad

NAD: Nicotinamida Adenina Dinucleótico

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Proteína C Reactiva

PCT: Procalcitonina

PMN: Polimorfonucleares

PSI: Pneumonia Severity Index

SCID: inmunodeficiencia congénita combinada severa

SNC: Sistema Nervioso Central

SOFA: Evaluación secuencial del fallo orgánico

TG: Tiroglobulina

TLR: Toll-like receptors

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α

TRACE: Time-Resolved Amplified Cryptate Emission

INTRODUCCIÓN

1.- PROCESOS INFECCIOSOS

El proceso infeccioso es el resultado de la interacción entre un agente infeccioso, y un huésped a través de una vía de transmisión. Las infecciones pueden ser locales o sistémicas y el proceso, además, abarca la multiplicación del agente patógeno en los tejidos y la reacción del anfitrión a su presencia, así como las posibles toxinas que libere dicho agente.

Las enfermedades infecciosas son las más frecuentes de todas las entidades de la patología médica, aunque muchas de ellas sean leves o casi subclínicas. Otra característica es que muchas enfermedades infecciosas son contagiosas, lo que origina brotes o epidemias, si bien existen notables diferencias en relación con la geografía y los distintos niveles socioeconómicos.

La introducción de antibióticos y otros quimioterápicos ha reducido extraordinariamente la mortalidad de multitud de enfermedades infecciosas, pero no así la morbilidad. Además, frente a la disminución de determinadas infecciones clásicas, que se contraen fuera del hospital, han aparecido otras adquiridas en el ámbito hospitalario (infecciones intrahospitalarias o nosocomiales), a cargo de gérmenes saprófitos o comensales (*Candida*, *Staphylococcus*), llamados oportunistas debido a que aprovechan la ocasión que se les ofrece cuando están en contacto con pacientes inmunodeprimidos o a los que se les ha practicado un procedimiento invasivo¹. Estos agentes, además, desarrollan con frecuencia resistencia a los antibióticos, representando un grave problema en los centros sanitarios.

Una vez que el agente infeccioso ha penetrado en el organismo, por norma general, se adhiere a las células epiteliales, originando la lesión primaria o infección local. Sin embargo, la mayoría de los agentes tiende a diseminarse, ya sea localmente, o bien de forma sistémica, progresando hacia los ganglios linfáticos regionales y, si no son detenidos, pasan con la linfa por el conducto torácico y alcanzan el torrente circulatorio. Las manifestaciones clínicas son variadas en función del agente infeccioso, aunque algunas de las más comunes son la aparición de fiebre, postración, debilidad y cefalea. En los casos más graves, puede producirse una diátesis hemorrágica debido a

una coagulopatía por consumo (trombocitopenia y déficit de fibrinógeno, protrombina, factores V y VIII). Esta diátesis hemorrágica es de instauración fulminante y se asocia a un estado de shock profundo que, a menudo, conduce a la muerte del individuo en unas pocas horas. El riesgo de mortalidad por una sepsis aumenta directamente con relación a la escala SOFA (evaluación secuencial del fallo orgánico), pero también con la gravedad de la sepsis².

Tras una agresión, ya sea causada por agentes infecciosos o no infecciosos, se inicia un proceso inflamatorio mediado por factores humorales y celulares cuyo propósito es limitar y reparar la lesión producida. Los agentes desencadenantes van a ser reconocidos por células del sistema inmunitario mediante receptores de superficie, destacando los TLR (Toll-like receptors). Dentro de este grupo de receptores, tienen especial relevancia el TLR4, implicado en el reconocimiento de liposacáridos de las bacterias Gram negativas y endotoxinas bacterianas, y el TLR2, implicado en el reconocimiento del péptidoglicano y ácidos teicoicos de las bacterias Gram positivas³. La respuesta inflamatoria se inicia con una rápida liberación de las citocinas pro-inflamatorias (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), citocinas inmunológicas (IL-5, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13), interferón γ (γ -INF), TNF- β , y marcadores de activación inmunológica (neopterina y receptor soluble de IL-2) (Figura 1). La liberación de las citocinas pro-inflamatorias es muy fugaz y son rápidamente aclaradas de la circulación sistémica. El TNF- α ejerce un papel central en la respuesta inflamatoria: se libera tras 90-120 minutos del estímulo, alcanza una concentración máxima a las 2-4 horas y vuelve a ser indetectable transcurridas unas 6 horas⁴.

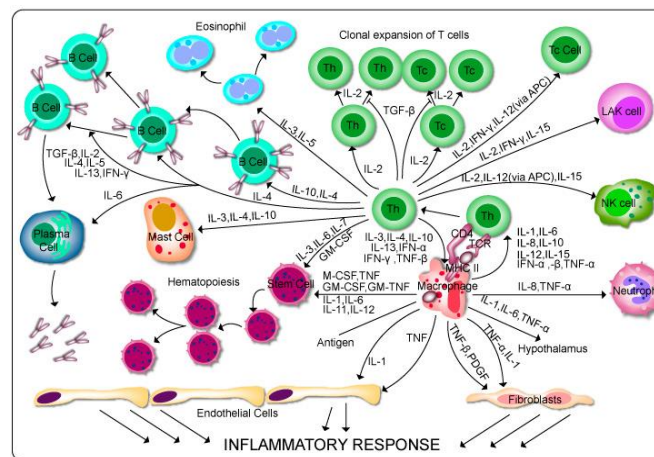


Figura 1. Mecanismo de acción de las interleucinas durante la respuesta inflamatoria

Las citocinas pro-inflamatorias activan las células endoteliales que, tras su activación, expresan moléculas de superficie para el reclutamiento de monocitos y neutrófilos. Una vez atraídos al lugar donde se ha iniciado el proceso, liberan distintos mediadores, como radicales libres de oxígeno, óxido nítrico e histamina, que activan la cascada del ácido araquidónico, el sistema del complemento y la cascada de la coagulación. Por otra parte, para evitar una respuesta exagerada del organismo ante una agresión, las propias citocinas pro-inflamatorias tienen un papel regulador estimulando la liberación de citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10), mediadores antitrombóticos (proteína C, antitrombina) e iniciando la apoptosis de los linfocitos. Por último, se estimula la síntesis hepática de reactantes de fase aguda (factores del complemento, ferritina, haptoglobina y Proteína C Reactiva -PCR- entre otros) y la liberación de procalcitonina (PCT), mediada por la acción de IL-1 β , IL-6 y TNF- α ⁵. Cuando PCT e IL-6 son liberadas ante un estímulo infeccioso, actúan como mediadores secundarios con capacidad para amplificar y potenciar dicha respuesta⁶. Se ha descrito que el incremento de las concentraciones de estos dos mediadores inflamatorios se asocia con una mayor gravedad del proceso y con mortalidad⁷. Por el contrario, la PCR se puede liberar como respuesta a IL-6 e IL-8 tras cualquier estímulo inflamatorio, incluso los estímulos no infecciosos, siendo por tanto la PCR un marcador más inespecífico de sepsis⁸.

Existen más de 1400 especies de agentes patógenos en el mundo, que son responsables de aproximadamente 350 cuadros clínicos diferentes^{9,10}. Estos agentes patógenos provocan anualmente 300 millones de casos de infección y más de 5 millones de fallecimientos en el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre las infecciones bacterianas que más muertes provocan en el mundo anualmente se encuentran las infecciones de las vías bajas respiratorias (principalmente bronquitis aguda, agudización infecciosa de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y neumonía), las enfermedades diarreicas, la meningitis y el sarampión¹¹.

En el presente trabajo de tesis doctoral, se han estudiado algunos marcadores orientados a evaluar dos de estas entidades infecciosas de gran trascendencia en nuestro entorno sociosanitario, meningitis y neumonía, como se describe a continuación.

2.- MENINGITIS

2.1 Concepto y clasificación

La meningitis es la respuesta inflamatoria a una agresión de las células leptomeníngeas de las membranas aracnoides y piamadre, membranas que recubren el cerebro y la médula espinal y conforman el espacio subaracnoideo. Entre las diversas etiologías de la meningitis, destacan los procesos infecciosos por agentes patógenos, que representan una emergencia médica y son más frecuentes en la población pediátrica. La meningitis causada por virus presenta una mayor incidencia que las meningitis causadas por bacterias, pero afortunadamente, el curso clínico de las meningitis víricas habitualmente es benigno, y no es necesario un tratamiento específico más allá de las medidas habituales de soporte al paciente¹².

En la práctica médica, es frecuente la clasificación de los cuadros clínicos de meningitis según su origen: infeccioso (meningitis séptica), o no infeccioso (meningitis aséptica). Dentro de las meningitis sépticas se pueden encontrar a su vez dos categorías: en primer lugar, la meningitis bacteriana, principalmente debida a infecciones por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, así como otros microorganismos (género *Staphylococcus* y bacilos gramnegativos); y, en segundo lugar, la meningitis tuberculosa, provocada por varias especies de patógenos del género *Mycobacterium*¹³. Entre las meningitis sépticas, cabe encuadrar, asimismo, las meningitis infecciosas de origen fúngico (entre las que destaca la causada por el hongo *Cryptococcus neoformans*)¹⁴ y las meningitis de origen vírico graves (siendo *Enterovirus sp.* el agente responsable del 80-90% de las infecciones). No obstante, debido a su limitada patogenicidad, las meningitis víricas normalmente se clasifican dentro de la categoría de meningitis asépticas¹⁵.

La categoría de meningitis aséptica incluye, a su vez, diversas situaciones clínicas¹⁶:

- Procesos patológicos relacionados con procesos no infecciosos: tumores, endocarditis, enfermedades autoinmunes, y algunas enfermedades sistémicas, como sarcoidosis, linfomas o leucemia.
- Reacciones adversas a fármacos, como antiinflamatorios no esteroides (AINES), antibióticos (trimetoprim, amoxicilina y cefalosporina),

inmunosupresores (azatioprina), citotóxicos (citarabina) y fármacos administrados por vía intratecal (incluyendo medios de contraste).

- Cuadros causados por agentes bacterianos que provocan infección sistémica, y son responsables de un proceso inflamatorio a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), como es el caso de *Treponema pallidum*, *Leptospira sp* y *Plasmodium sp*.
- Meningitis víricas.
- Meningitis bacterianas parcialmente tratadas, también denominadas “meningitis decapitada”, que se caracteriza por un cuadro atípico en el que el paciente ha recibido antibióticos en las 24-48 horas previas a la punción lumbar¹⁷.

2.2 Epidemiología

Aunque se postula que la meningitis se conoce desde la antigüedad, las primeras epidemias aparecieron en Europa a principios del siglo XIX, pero hasta 1887 no se consiguió aislar y cultivar *Neisseria meningitidis* en Austria. Hasta el descubrimiento de la penicilina, en el año 1943, las epidemias por meningitis presentaban tasas de letalidad en torno a un 50%. En 1970, se desarrolló la primera vacuna contra el serogrupo C de *Neisseria meningitidis*, disminuyendo notablemente, a partir de entonces, la incidencia de la enfermedad a nivel mundial¹⁸, si bien continúan agrupándose un gran número de fallecimientos en zonas endémicas y en países donde las estructuras sanitarias no están desarrolladas, principalmente en el área subsahariana, también conocida como “el cinturón de la meningitis” (Figura 2).

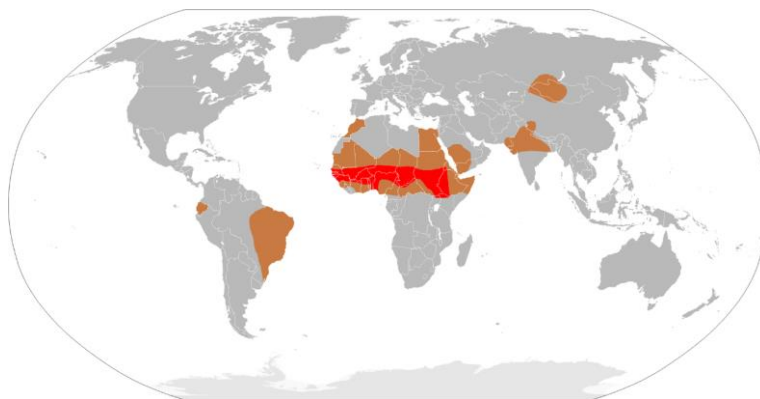


Figura 2. Distribución mundial de la meningitis. En gris, zonas donde se producen casos esporádicos. En marrón, zonas epidémicas. En rojo el denominado “cinturón de la meningitis”

La *Neisseria meningitidis* es un coco gramnegativo que se observa aislado o agrupado en parejas. El microorganismo posee una cápsula polisacárida antigénica que permite su clasificación con métodos serológicos. En total se han identificado 12 serogrupos (A, B, C, H, I, K, L, X, Y, Z, 29E y W135)¹⁹, siendo los serotipos A, B y C los responsables de aproximadamente un 90% de los casos a nivel mundial. Los serogrupos A y C predominan en las regiones de Asia y África, mientras que en Europa y América predominan los serogrupos B y C^{20,21}. En España, se introdujo la vacunación sistemática del serogrupo C en el año 2000, observándose una disminución notable en la incidencia de esta enfermedad. No obstante, el serotipo predominante en nuestro entorno es el de tipo B, responsable del 70% de las infecciones por meningococo, frente al cual recientemente (enero 2014), la Agencia Española del Medicamento autorizó la comercialización de una vacuna²². En España, la enfermedad meningocócica es de declaración obligatoria, registrándose en el año 2014 una tasa de incidencia de 231 casos por cada 100000 habitantes²³, con una mortalidad inferior al 20%. Se estima que aproximadamente el 70% de las meningitis bacterianas ocurren en niños con una edad inferior a 5 años.

2.3 Presentación clínica, diagnóstico y pronóstico

Los síntomas de la meningitis son bastante inespecíficos durante la fase inicial de la enfermedad, independientemente de la etiología vírica o bacteriana, pudiendo aparecer simplemente dolor de cabeza, fiebre o náuseas. Posteriormente, aparecen otros signos más específicos, como convulsiones o rigidez nuchal. En población pediátrica, en ocasiones sólo se observa irritabilidad y somnolencia, lo que dificulta el diagnóstico. Sin embargo, se pueden observar signos meníngeos más específicos que pueden orientar hacia el diagnóstico, como el signo de Kerning (al levantar la pierna sujetándola a través del talón, el paciente no es capaz de mantenerla extendida a partir de cierta altura y la flexiona bruscamente a través de la rodilla) y el signo de Brudzinski (al flexionar el cuello del paciente hacia adelante, se produce dolor, y el paciente responde flexionando sus piernas, y en ocasiones la cadera)²⁴.

Cuando la sospecha de meningitis es firme, se debe realizar un estudio radiológico y una extracción de líquido cefalorraquídeo (LCR) para su análisis microbiológico, citológico y bioquímico. El LCR habitualmente se extrae mediante

punción lumbar, un procedimiento invasivo no exento de riesgos, que requiere introducir una aguja de unos 5-6 centímetros entre las vértebras lumbares L2 y L3 del paciente, para alcanzar el espacio subaracnoideo a nivel de la médula espinal²⁵. En algunos escenarios en los que se ha producido una infección generalizada del SNC simultáneamente a otra patología que cursa con aumento del volumen de LCR en los ventrículos (como es el caso de traumatismos, isquemias, accidentes cerebrovasculares o hidrocefalia por otras causas), se coloca un drenaje ventricular con doble finalidad: aliviar el aumento de la presión intracraneal y, en caso de infección, drenar líquido purulento.

En ocasiones, puede presentarse hidrocefalia, que es la dilatación de los ventrículos cerebrales por un defecto congénito, o bien, por un defecto adquirido en el drenaje del LCR²⁶. La hidrocefalia puede presentarse como secuela del proceso meningítico o de una hemorragia subaracnoidea, y puede requerir la administración de fármacos antiedemas (manitol, glicerol) y la colocación de una válvula de derivación ventriculoperitoneal, que regule la circulación del LCR²⁷. De esta forma, se pueden evitar futuras complicaciones por aumento de presión intracraneal, como son incontinencia urinaria, trastornos de la marcha, demencia y daño neurológico²⁸.

Debido a la alta morbimortalidad de la meningitis bacteriana, es fundamental realizar un diagnóstico diferencial para el adecuado manejo del paciente y la selección del tratamiento²⁹, ya que serán diferentes según el origen sea bacteriano o vírico. En cualquier caso, las guías clínicas recomiendan iniciar un tratamiento empírico con antibióticos cuando exista la mínima sospecha clínica de que el paciente pueda padecer una meningitis de origen bacteriano, ya que la carencia de un tratamiento precoz puede causar serias complicaciones. Por este motivo, según la OMS, se estima un exceso en la prescripción de antibióticos de hasta del 50%³⁰, lo que conlleva un mayor riesgo de toxicidad y la aparición de nuevas resistencias bacterianas a los antibióticos³¹. No obstante, en este escenario, el binomio beneficio-riesgo se inclina a favor de la utilización de los mismos.

El riesgo de mortalidad por meningitis bacteriana depende de varios factores, entre los cuales la edad del paciente adquiere gran relevancia. En el caso de recién nacidos, la tasa de mortalidad se sitúa entre el 20 y el 30%. Ese riesgo es más bajo en

edad pediátrica, con tasas de mortalidad alrededor del 2%, mientras que en adultos se sitúa de nuevo entre el 19 y el 37%³². La predicción de riesgo de muerte se basa en otros factores aparte de la edad, como por ejemplo el agente patógeno y el tiempo que se tarda en eliminarlo del LCR, de tal forma que las meningitis causadas por *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* presentan mejor pronóstico que las causadas por coliformes, estreptococos del grupo B y *Staphylococcus pneumoniae*³³. La meningitis bacteriana puede asociarse con secuelas graves a largo plazo, como aparición de sordera, epilepsia, hidrocefalia, parestesias o déficit cognitivo³⁴, especialmente entre aquellos pacientes cuyo tratamiento se ha demorado (lo que ocurre hasta en un 35% de los casos). En los niños, además, pueden producirse cambios en el comportamiento y disminución de la inteligencia. Por el contrario, la meningitis vírica tiende a la resolución espontánea con recuperación completa a los 10-15 días tras el inicio de los síntomas, y aunque rara vez es mortal, se han descrito casos en los que los pacientes experimentan cansancio, mareos, astenia o problemas de memoria³⁵.

3.- NEUMONÍA

3.1 Concepto y clasificación

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) se define como una infección aguda del parénquima pulmonar que se manifiesta con signos y síntomas de infección respiratoria baja, asociados a un infiltrado nuevo en la radiografía de tórax no explicable por otra causa, y que se presenta en pacientes no hospitalizados o que no hayan sido ingresados en un hospital en los 14 días previos al inicio de los síntomas, o bien en aquellos pacientes hospitalizados que presentan esta infección aguda en las 24-48 horas siguientes a su ingreso.

Es de especial relevancia diferenciar la neumonía de la bronquitis aguda, una enfermedad inflamatoria autolimitada que afecta principalmente a la tráquea y los bronquios, y en el que la tos constituye el síntoma más clínico destacado, ya sea con expectoración o sin ella³⁶.

Los microorganismos pueden alcanzar el parénquima pulmonar por tres vías:

- a) Por extensión directa a partir de un foco contiguo, situado en el mediastino o en el espacio subfrénico; en estos casos suele producirse un empiema pleural.
- b) Por propagación hematogénica a partir de un foco séptico distante; éste es el mecanismo responsable de la neumonía estafilocócica en pacientes con endocarditis de la válvula tricúspide o con tromboflebitis séptica y de algunas neumonías que se producen en el curso de la bacteremia por *Escherichia coli* o por *Pseudomonas aeruginosa*.
- c) Por el descenso hasta el alveolo a través de las vías aéreas, ya sea por inhalación de aerosoles contaminados o bien por aspiración de secreciones orofaríngeas. La mayoría de las neumonías obedecen a este último mecanismo.
- d) En pacientes con depresión de la inmunidad celular cabe considerar una cuarta posibilidad consistente en la reactivación de gérmenes que permanecían en estado latente (*Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis carinii*, citomegalovirus)

Sólo las partículas con un diámetro inferior a 5 μm son capaces de alcanzar el alveolo, mientras que las partículas que tienen un diámetro superior son atrapadas por mecanismos mucociliares y posteriormente aclaradas del aparato respiratorio³⁷. En condiciones normales, los macrófagos alveolares eliminan la mayoría de microorganismos capaces de alcanzar los alveolos, pero algunos agentes patógenos eluden los mecanismos del macrófago y son capaces de multiplicarse en su citoplasma. La neumonía bacteriana se produce cuando los mecanismos de defensa no tienen éxito, ya sea por un defecto intrínseco en su funcionamiento (por ejemplo, pacientes inmunocomprometidos), o porque el inóculo de bacterias aspiradas sobrepasa la capacidad normal de aclaramiento.

En el caso de las infecciones víricas de las vías respiratorias, durante la primera semana, el virus se reproduce en el epitelio ciliado del árbol bronquial e interfiere en su actividad. Al acabar este periodo, el epitelio se descama, cayendo hacia el alveolo, donde los macrófagos fagocitan las células descamadas infectadas por el virus. Coincidiendo con este hecho, los macrófagos incrementan su actividad antivírica, a expensas de una disminución significativa de su actividad antibacteriana³⁸. Por este

motivo, los pacientes son más susceptibles de sufrir una sobreinfección bacteriana durante la segunda semana.

De acuerdo con la distribución anatómica de la infección, la neumonía puede clasificarse en:

- a) Neumonía lobular. Se caracteriza por la presencia de exudado fibrinopurulento en el seno de los alveolos. La infección se extiende a los alveolos vecinos y progresa, hasta alcanzar las cisuras, originando la consolidación de todo el lóbulo.
- b) Neumonía lobulillar o bronconeumonía. Se caracteriza por la presencia de exudado purulento en el interior de bronquiolos terminales y alveolos adyacentes. La infección se extiende originando múltiples focos de consolidación lobulillar.
- c) Neumonía intersticial. *Mycobacterium pneumoniae* y los virus originan una reacción inflamatoria predominantemente intersticial, en la que los tabiques alveolares están edematosos e infiltrados por células mononucleares.

Cuando la infección se localiza en la región subpleural (Figura 3), puede originar un derrame pleural serofibroso de naturaleza reactiva, o bien un empiema en caso de que el germen invada la pleura. En ocasiones, el microorganismo puede diseminarse a otros órganos, pudiendo aparecer otros cuadros como meningitis o artritis neumocócica.

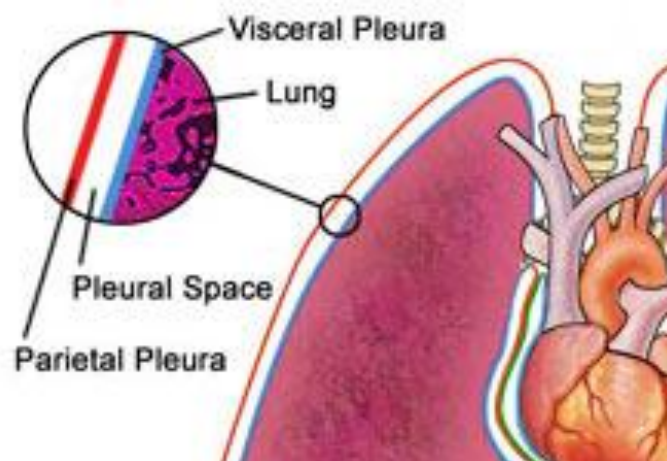


Figura 3. Espacio pleural. La pleura se compone de dos membranas que recubre los pulmones (visceral y parietal). En condiciones fisiológicas contiene 15 mL de un líquido de aspecto mucoso que lo lubrica, el líquido pleural (LP).

Alrededor del 50% de las neumonías bacterianas se acompañan de derrame pleural, generalmente estéril y de pequeño volumen, que suele reabsorberse espontáneamente. El empiema sólo se desarrolla en torno al 1% de los pacientes.

3.2 Epidemiología

La NAC representa una de las infecciones más frecuentes en los países industrializados. En Alemania, el grupo de estudio CAPNETZ ha estimado una incidencia anual de 10 casos por cada 1000 habitantes, registrándose anualmente aproximadamente 18000 fallecimientos, lo que representa un 2,2% con respecto a todas las causas de mortalidad³⁹. En otros estudios, se han reportado tasas de incidencia anual entre 1,6 y 11,6 casos por cada 1000 habitantes^{40,41}.

Los microorganismos responsables de la neumonía varían en función de la edad del paciente. En el recién nacido, los agentes más frecuentes son los adquiridos en el canal del parto, como *Chlamydia trachomatis*. En el niño son más frecuentes las infecciones víricas, como el virus respiratorio sincitial, parainfluenza y adenovirus, pero también se pueden hallar infecciones bacterianas por *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*.

En el adulto, *Streptococcus pneumoniae* es responsable del 40-80% de las neumonías, seguido de *Mycoplasma pneumoniae* en un 20% de los casos. Aparte de estos agentes causales, la frecuencia de casos de neumonía se reparte entre diversas bacterias, algunas de las cuales también tiene capacidad de producir cuadros de meningitis: *Coxiella burnetti*, *Chlamydia pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Neisseria meningitidis*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella sp.* o *Francisella tularensis*. Sin embargo, las neumonías víricas son infrecuentes en el adulto, siendo en su mayoría causados por influenza, varicela y sarampión.

3.3 Presentación clínica, diagnóstico y pronóstico

La presentación clínica se caracteriza por aparición de fiebre, malestar general y tos, expectoración, dolor torácico y disnea. A menudo, el paciente sufre una enfermedad de base, como insuficiencia cardíaca, bronquitis crónica, alcoholismo o diabetes⁴². El cuadro clínico es de aparición súbita, con escalofríos y tos productiva, así como dolor costal debido a la inflamación de la pleura. Se asocia con una morbilidad y mortalidad elevadas, posicionándose como la tercera causa de mortalidad en el mundo⁴³.

Ante una sospecha clínica de neumonía, se debe confirmar el diagnóstico con una radiografía de tórax (Figura 4). Durante las primeras horas de evolución, el dolor, y la tos pueden estar ausentes y la auscultación del paciente puede ser normal, siendo la única manifestación clínica la fiebre, lo que puede dificultar el diagnóstico diferencial con una bronquitis aguda. Por tanto, una temperatura superior a 38,5 °C, o la presencia de escalofríos, nunca deben atribuirse a bronquitis aguda sin examinar antes la radiografía de tórax³⁶.

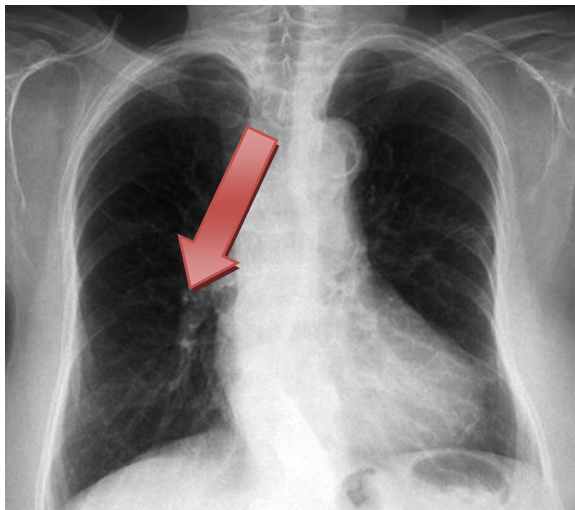


Figura 4. Radiografía de tórax en la que se puede apreciar un derrame pleural en el lóbulo inferior del pulmón izquierdo.

Sin embargo, durante las primeras horas de evolución de una neumonía bacteriana, la radiografía de tórax puede ser normal o mostrar cambios mínimos. Además, pacientes obesos, o con enfisemas y otras anomalías del parénquima pulmonar, pueden presentar imágenes radiológicas poco evidentes. Existen también otras causas no infecciosas que producen condensación pulmonar y fiebre, como el edema pulmonar cardiogénico, el infarto pulmonar, hemorragia postraumática, neoplasia, atelectasia, eosinofilia pulmonar, alveolitis alérgica y neumonitis por radiación, fármacos o tóxicos.

Por tanto, para completar el diagnóstico diferencial, es necesaria la realización de pruebas complementarias, como una gasometría arterial, que puede sugerir el diagnóstico de neumonía si muestra hipoxemia ($PO_2 < 80$ mmHg) acompañada de hipocapnia ($PCO_2 < 35$ mmHg)⁴⁴, si bien existen otras causas que pueden mostrar resultados similares, como la hiperventilación por estrés, por sangrado, la cetoacidosis o el edema cardiogénico.

Las guías clínicas recomiendan, asimismo, la realización de una toracocentesis con fines terapéuticos en todos los casos en que exista un derrame pleural, aunque está contraindicada cuando el paciente presenta diátesis hemorrágica y otros trastornos de la coagulación^{45,46}. La técnica consiste en sentar al paciente con los brazos apoyados a la altura de los hombros y, tras aplicar anestesia local, introducir una aguja entre las costillas hasta la cavidad pleural para recoger la colección de líquido pleural (LP). En caso de empiema, en ocasiones no se produce la salida de líquido, por lo que se debe recurrir a una aguja de mayor calibre provista de un fiador. La toracocentesis no se acompaña normalmente de complicaciones, pero en ocasiones puede aparecer neumotórax, hemotórax, o sobreinfección.

Aunque los datos clínicos y radiológicos por sí solos no permiten establecer con certeza el diagnóstico etiológico, son suficientes para instaurar un tratamiento inicial empírico ante la sospecha de una neumonía. Los pacientes suelen responder favorablemente al tratamiento antimicrobiano, y los estudios prospectivos aleatorizados han demostrado que no existen diferencias en la evolución de los pacientes entre la instauración de un tratamiento empírico con respecto a un tratamiento dirigido basado en los resultados de pruebas rápidas (antígenos urinarios para *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila*)⁴⁷. La decisión inicial del tipo de tratamiento antibiótico depende de la gravedad de la NAC y de los factores de riesgo del paciente, así como la evaluación de las escalas pronósticas⁴⁸.

Sin embargo, un 10 - 15% de los pacientes hospitalizados no responden adecuadamente al tratamiento inicial, presentando una evolución insatisfactoria⁴⁹. Esta respuesta es difícil de definir porque depende de factores relacionados con la gravedad inicial, las características del paciente, o que el microorganismo causal no tenga la sensibilidad esperada al antibiótico administrado. Ante una evolución insatisfactoria, las guías clínicas aconsejan realizar en primer lugar una reevaluación completa del paciente para confirmar el diagnóstico inicial de NAC y descartar causas no infecciosas, por ejemplo mediante la realización de una tomografía computarizada⁵⁰. En segundo lugar, recomiendan realizar una evaluación microbiológica del paciente para instaurar un tratamiento antibiótico específico. Adicionalmente, en pacientes que presenten otras patologías concomitantes, es razonable iniciar un tratamiento mixto, como heparina o diuréticos.

El desenlace de la NAC es, en general, favorable, presentando baja mortalidad en los países desarrollados (en contraste con las neumonías de origen nosocomial, cuya mortalidad se sitúa entre el 25 y el 50%). Existen dos escalas de clasificación pronóstica, la escala FINE/PSI y la escala CURB-65, cuya finalidad consiste en establecer el riesgo de mortalidad a 30 días de un paciente con diagnóstico de neumonía.

La escala FINE (en honor al Dr Fine), también denominada PSI (Pneumonia Severity Index), es una clasificación que asigna una puntuación a través de la evaluación de 20 ítems, entre los que se encuentran factores demográficos (edad, sexo, paciente institucionalizado), enfermedades concomitantes (neoplasia, insuficiencia hepática, insuficiencia cardíaca, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal), hallazgos durante la exploración física (estado mental, frecuencia respiratoria, presión sistólica, temperatura corporal, pulso), hallazgos de laboratorio (pH arterial, urea, sodio, glucosa, hematocrito, presión parcial de oxígeno) y la presencia o no de derrame pleural. La escala se validó con 38039 pacientes clasificados en un total de 5 grupos, con distintos pronósticos según su riesgo (Tabla 1): bajo, medio y alto⁵¹.

Clase	Descripción	Riesgo mortalidad
I	*	Bajo (0,1 - 2,8%)
II	Puntuación < 70	Bajo (0,1 - 2,8%)
III	Puntuación 70 - 90	Bajo (0,1 - 2,8%)
IV	Puntuación 91 - 130	Medio (8,2 – 9,3%)
V	Puntuación > 130	Alto (27,0 – 31,1%)

Tabla 1: Estratificación de los pacientes NAC según la puntuación asignada en la escala FINE⁵¹.
*Pacientes con edad inferior a 50 años, sin comorbilidades o estado mental alterado, pulso < 125/minuto, frecuencia respiratoria <30/minuto, presión arterial sistólica > 90 mmHg y temperatura corporal entre 35 y 40°C

La escala CURB-65 es un índice que, a pesar de ser menos preciso que FINE, es más sencillo en la práctica clínica porque evalúa menor número de ítems, asignando un valor de 0 ó 1 a cada uno de ellos: confusión mental, urea, frecuencia respiratoria, presión arterial sistólica y edad del paciente (>65 años)⁵². El acrónimo de estos parámetros en inglés forma las siglas CURB-65, y permite clasificar a los pacientes en riesgo bajo (puntuación total 0 ó 1), riesgo moderado (puntuación total 2) y riesgo alto (puntuación total 3 – 4). En ocasiones, se emplean variantes de la escala validadas en

diversos estudios como la CURB (que no tiene en cuenta la edad del paciente)⁵³ o la CRB65 (que no tiene en cuenta la urea)⁵⁴. En cualquier caso, la finalidad de todas estas escalas es estratificar al paciente en grupos de riesgo y establecer un plan estratégico: tratamiento ambulatorio para el paciente de bajo riesgo, ingreso o seguimiento cercano para el paciente de riesgo moderado y, por último, ingreso en UCI para el paciente de riesgo alto.

4.- PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

4.1.- Pruebas de laboratorio de microbiología

La prueba de referencia para realizar el diagnóstico diferencial de la meningitis bacteriana es el cultivo microbiológico del LCR. Sin embargo, este método presenta dos inconvenientes, principalmente: su baja sensibilidad⁵⁵ y el tiempo de respuesta. En pacientes que no han recibido antibioterapia, la tinción rápida de Gram del LCR revela la presencia de bacterias en el 50-80% de los casos, y el cultivo es positivo en el 85% de los casos⁵⁶. Sin embargo, cuando el paciente ha recibido antibioterapia previa, tan solo el 50% de los cultivos son positivos. Esta limitada sensibilidad también es patente en el caso del LP. La tinción de Gram presenta una sensibilidad del 48% para diagnóstico de neumonía, a pesar de que su especificidad es cercana al 100%, y el cultivo sólo será positivo en un 25% de los casos con derrame paraneumónico no purulento y de un 70% en los casos de empiemas⁵⁷.

El segundo inconveniente del cultivo microbiológico es que el diagnóstico puede demorarse en el tiempo, ya que el crecimiento bacteriano requiere al menos 2 días. En el caso de los agentes víricos, dicho cultivo podría durar entre 3 y 8 días. Si bien actualmente existen nuevos métodos de alta sensibilidad y menor tiempo de respuesta, basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), solo están disponibles para los patógenos víricos más frecuentes: enterovirus y herpes simple.

Una vez que se ha obtenido un cultivo positivo del microorganismo, procede realizar el antibiograma, una prueba microbiológica que permite determinar tanto la sensibilidad como la resistencia de una bacteria frente a una batería de antibióticos. Esta técnica consiste en realizar un nuevo cultivo en un medio específico, en el que se han

añadido tiras o círculos impregnados con diferentes antibióticos, y se requieren nuevamente 2-3 días para obtener resultados. Recientemente, se está introduciendo en los laboratorios de microbiología clínica técnicas basadas en la espectrometría de masas: MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization -time of flight). Esta técnica se emplea para la identificación de la huella peptídica de las proteínas del microorganismo, incluyendo las proteínas expresadas en caso de resistencia a antibióticos, permitiendo identificar la bacteria y sus posibles resistencias⁵⁸. A pesar de que MALDI-TOF puede identificar microorganismos en un periodo corto (<30 minutos), sigue requiriendo la realización de un cultivo inicial y no se puede aplicar directamente sobre todo tipo de muestras biológicas⁵⁹.

En resumen, las pruebas microbiológicas son necesarias como tests confirmatorios y para optimizar el tratamiento por medio de la realización de antibiogramas/MALDI, pero la responsabilidad del diagnóstico inicial recae en el estudio citológico y bioquímico tanto del LCR como del LP.

4.2.- Recuento celular

Tras la obtención de la muestra, el recuento diferencial debe realizarse lo más rápido posible para evitar la degeneración celular. En LCR, la presencia de hasta un total de 5 leucocitos/ μL en adultos (7 leucocitos/ μL en niños) se considera dentro de los rangos de normalidad. En las meningitis bacterianas, se observa pleocitosis en LCR (>1000 leucocitos/ μL) con predominio de polimorfonucleares (PMN). Por el contrario, las meningitis víricas raramente provocan recuentos que superen los 1000 leucocitos/ μL , mostrando un predominio linfocitario en enfermedad avanzada, pero pueden no ser tan fáciles de identificar en los estadios iniciales^{60,61}. Por ese motivo, el recuento leucocitario no siempre permite el diagnóstico temprano de las meningitis víricas, donde las pruebas bioquímicas (glucosa y proteínas totales) pueden proporcionar información complementaria. Además, debido a que los virus son los causantes de la mayoría de las meningitis asépticas, se obtendrá un cultivo negativo, sin que pueda demostrarse la causalidad de dicha meningitis.

El LP contiene, en condiciones normales, escasa celularidad, con recuentos inferiores a 1000 leucocitos/ mm^3 , predominando los PMN (75%), seguido de linfocitos

(23%) y células mesoteliales (2%). Pueden existir diferencias en los resultados según el contenedor empleado para recoger la muestra. Se recomienda el uso de tubos que usen EDTA o heparina como anticoagulante; por el contrario, se desaconseja el uso de tubos que contengan citrato, o tubos sin anticoagulante, ya sean de vidrio o de plástico porque pueden conducir a recuentos celulares falsamente disminuidos⁶². Recuentos superiores a los 10000 leucocitos/mm³ pueden ser indicativos de derrame paraneumónico, pero también de tuberculosis, pancreatitis, neoplasias o lupus, si bien se considera más orientativo de pancreatitis e incluso de embolismo pulmonar la presencia de >50000 leucocitos/mm³. El recuento diferencial de la fórmula leucocitaria es orientativo de un proceso agudo o inflamatorio (neumonía, pancreatitis, tromboembolismo) en caso de predominio de PMN mientras que un predominio de mononucleares orienta a un proceso crónico (tuberculosis, neoplasia, quilotórax, linfomas)⁶³.

En ambos tipos de líquidos, el recuento de hematíes proporciona escasa información diagnóstica, ya que su presencia puede ser de origen sanguíneo. La presencia de 5000 a 10000 hematíes/mm³ es suficiente para dar una coloración rojiza a la muestra, y puede deberse a una contaminación de la muestra debido a la extravasación de algún capilar sanguíneo durante la punción lumbar o la toracocentesis. Esta posible contaminación cobra especial relevancia en el caso de la punción lumbar, ya que el recuento leucocitario en el LCR se verá falseado por exceso. Debido a que el rango de normalidad de leucocitos en LCR es bastante bajo, las guías clínicas recomiendan aplicar criterios de corrección en el recuento leucocitario en aquellos casos en que ha habido una extravasación⁶⁴. Por otra parte, en patologías no infecciosas, es frecuente encontrar líquidos hemorrágicos: en el caso de LCR en pacientes que han sufrido un accidente cerebrovascular o una hemorragia subaracnoidea y en el caso del LP en pacientes con trastornos de la coagulación y neoplasias, entre otros.

En ocasiones, se puede observar presencia de eosinófilos en el LP, con valores que superan el 10% del recuento celular. Esta eosinofilia puede deberse a múltiples causas, como procesos malignos, neumonía, tuberculosis, traumas, insuficiencia cardíaca, toracocentesis de repetición y causas idiopáticas, lo que dificulta correlacionar su causalidad con una patología. No obstante, se ha descrito que elevaciones por encima del 40% en el recuento celular se asocian de forma más frecuente a procesos malignos que con el resto de patologías⁶⁵.

4.3.- Parámetros bioquímicos clásicos

4.3.1.- Glucosa

La glucosa es la fuente primaria de producción de energía en las células mediante su oxidación catabólica. La cuantificación de glucosa plasmática es una de las solicitudes más frecuentes en el laboratorio clínico, especialmente por su implicación en el manejo del paciente diabético⁶⁶. Se consideran normales concentraciones comprendidas entre 70 y 100 mg/dL, tanto para muestras de sangre periférica como para LP, mientras que en el LCR se acepta como intervalo de referencia en individuos sanos concentraciones entre 40 y 70 mg/dL, en adultos (60 – 80 mg/dL en población pediátrica).

Las concentraciones de glucosa en líquidos biológicos y en sangre periférica están en correlación, por lo que resulta útil estimar la proporción de glucosa líquido/suero. En LCR, una proporción inferior a 0,40 se considera ya indicativa de que se está produciendo un consumo incrementado de glucosa y orienta a meningitis por un agente bacteriano. Se ha descrito que un descenso de dicha proporción por debajo de 0,23, presenta alto valor predictivo de meningitis bacteriana (99%)⁶⁷.

En LP, valores de glucosa inferiores a 60 mg/dL orientan el diagnóstico hacia derrames paraneumónicos complicados, pero también es frecuente observar estos valores en neoplasias, hemotórax y pleuritis reumatoide. Concentraciones inferiores a 40 mg/dL son indicativas de empiema⁶⁸.

4.3.2.- Proteínas totales

Las proteínas plasmáticas se sintetizan principalmente en el hígado, las células plasmáticas, los ganglios linfáticos, bazo y médula espinal. En caso de enfermedad, tanto la concentración de las proteínas totales como sus fracciones individuales pueden diferir considerablemente de los valores normales.

Los valores de referencia de proteínas, tanto en plasma como en líquidos biológicos, varían en función de la edad y del tipo de líquido (Tabla 2.)⁶⁹. La elevación de proteínas en LCR puede estar relacionada con una alteración de la permeabilidad de

la barrera hematoencefálica, ya sea por presencia de bacterias, o bien por otras patologías.

Suero/plasma		LCR	
0 – 7 días	44 – 76 g/L	1 – 30 días	25 – 72 mg/dL
8 días – 1 año	51 – 73 g/L	2 – 3 meses	20 – 72 mg/dL
1 – 2 años	56 – 75 g/L	4 – 6 meses	15 – 50 mg/dL
3 – 7 años	60 – 80 g/L	7 – 12 meses	10 – 45 mg/dL
Adultos	64 – 83 g/L	1 – 4 años	10 – 40 mg/dL
LP		5 – 8 años	10 – 43 mg/dL
Adultos	<30 g/L	Adultos	10 – 45 mg/dL

Tabla 2. Valores de referencia de proteínas totales en suero, LP y LCR, según los diferentes rangos de edad.

La cuantificación de proteínas en LP tiene interés para diferenciar entre exudado y trasudado, de interés en el manejo del paciente para orientar hacia un posible diagnóstico. Esta clasificación frecuentemente se realiza de acuerdo con los criterios de Light, que evalúan la concentración de proteínas y LDH tanto en suero como en LP⁷⁰ (Tabla 3).

	TRASUDADO	EXUDADO
Relación proteínas LP/suero	< 0,5	> 0,5
Relación LDH LP/suero	< 0,6	> 0,6
LDH en LP	$\leq 2/3$ LSN* LDH sérica	$> 2/3$ LSN* LDH sérica

Tabla 3. Criterios de Light para la clasificación de LP en exudados o trasudados. * LSN: Límite superior de normalidad

Se ha descrito como un criterio alternativo de Light el gradiente de la concentración de proteínas entre LP y suero en lugar del cociente, considerándose el punto de corte de exudado en 3,1 g/dL^{71,72}.

Algunos clínicos emplean como criterio rápido directamente la concentración de proteínas en LP. Este criterio de clasificación es anterior al de Light, pues fue en 1955 cuando fue publicado, en el cual se proponía para diferenciar entre exudado y trasudado un punto de corte de 30 g/L⁷³. Cuatro décadas después, un estudio confirmó que un punto de corte de 29 g/L presentaba una sensibilidad del 91,5% y una especificidad del

83%⁷¹. En ocasiones se utiliza debido a la comodidad que implica realizar una medición directa de un único parámetro sin tener que recurrir a cálculos de gradientes o de cocientes.

4.3.3.- Lactato deshidrogenasa (LDH)

La LDH es una enzima citoplasmática que contiene un heteroátomo de zinc y pertenece a la familia de las oxidorreductasas. Su función es catalizar la reducción del piruvato a lactato gracias a la oxidación de Nicotinamida Adenina Dinucleótico (NAD) en su forma hidrogenada (NADH) a NAD⁺. La LDH, en ausencia de oxígeno en la célula, participa en el metabolismo energético anaerobio por medio de la reducción de piruvato (procedente de la glucólisis), con el objetivo de regenerar el NAD⁺ consumido⁷⁴.

La LDH se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos, especialmente en el corazón, hígado, músculos y riñones. Es un marcador de destrucción celular, bastante sensible pero poco específico. La LDH tiene forma de tetrámero y presenta cinco isoenzimas posibles, que difieren entre sí en función del número de subunidades (H y M) que conforman dicho tetrámero.

En la actualidad, los métodos analíticos disponibles en el laboratorio clínico miden la LDH sérica total, sin diferenciar entre las distintas isoenzimas. La medida de la concentración de LDH es útil en el estudio de las enfermedades hemolíticas (especialmente la anemia megaloblástica), el shock y el seguimiento y pronóstico de ciertos tumores (ej: hematológicos, de células germinales...).

Este mismo ensayo se puede realizar en líquidos biológicos. En LCR, la concentración de LDH se incrementa como consecuencia de varios procesos que impliquen daño en el tejido cerebral, así como en infecciones⁷⁵. En LP, el valor de la LDH se emplea en el segundo y tercer criterio de Light como criterio de clasificación entre trasudados y exudados (cociente de LDH pleural/sérica > 0,6 o bien, que el valor de la LDH en LP sea igual a superior a 2/3 el valor superior de referencia en suero). Por otra parte, tiene utilidad clínica, ya que se han propuesto puntos de corte para apoyar al diagnóstico de derrames infecciosos paraneumónicos con valores superiores a 1000 UI/L, o bien 3 veces el valor superior de referencia en suero⁶³.

Los valores de referencia de LDH en plasma varían en función de la edad y el sexo. En líquidos biológicos no se han establecido (Tabla 4).

Suero/plasma	
RN (4-19 días)	225 – 600 UI/L
20 días – 15 años	120 – 300 UI/L
Adultos hombres	135 – 225 UI/L
Adultos mujeres	135 – 214 UI/L

Tabla 4: Valores de referencia de LDH en suero/plasma, según edad y sexo.

Sin embargo, existen limitaciones a la hora de emplear este marcador. En primer lugar, la presencia de hemólisis en la muestra (ya sea hemólisis in vivo o in vitro), dado el elevado contenido intraeritrocitario de LDH. Se han propuesto fórmulas para corregir el valor de la LDH en función del recuento de hematíes⁷⁶. Además, a la hora de interpretar los resultados, existen fuentes de variabilidad que puede provocar un aumento de las concentraciones, tanto situaciones patológicas (hepatopatías, insuficiencia renal, trastornos musculares, infarto de miocardio, anemia hemolítica), como factores fisiológicos (ejercicio físico, embarazo, alcoholismo) e, incluso, factores iatrogénicos (ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, diuréticos y algunos antibióticos). Entre las causas que pueden producir una disminución de los valores, se encuentra la exposición del paciente a radiación tipo X.

4.3.4.- Otros parámetros bioquímicos

4.3.4.1- Albúmina

La albúmina es una proteína sin carbohidratos que constituye un 55-65% de la totalidad de las proteínas plasmáticas. Entre sus funciones biológicas destacan el mantenimiento de la presión coloidosmótica plasmática (en casos graves de hipoalbuminemia, debido a la baja presión osmótica del plasma, el líquido pasa de los capilares sanguíneos al tejido, formando edemas), el ser fuente endógena de aminoácidos, y el transporte y almacén de numerosos ligandos, entre los que se encuentran la bilirrubina, el calcio, ácidos grasos de cadena larga, metales pesados y fármacos.

La cuantificación de albúmina plasmática tiene interés también para evaluar el estado nutricional del paciente (deshidratación, problemas de absorción, embarazo) y detectar trastornos hepáticos⁷⁷. Su medida en orina tiene utilidad en pacientes con síndrome nefrótico. Los valores de referencia para la albúmina en plasma se presentan en la Tabla 5. En LCR y LP no se han establecido.

Suero/plasma	
Niños <5 días	28 – 44 g/L
Niños 6 - 14 días	38 – 54 g/L
Niños 15 - 18 días	32 – 45 g/L
Adultos	35 – 52 g/L

Tabla 5: Valores de referencia de albúmina cuantificada en suero, LP y LCR, según los diferentes rangos de edad.

En líquidos biológicos, sin embargo, la cuantificación de albúmina es poco frecuente y aporta mucha menos información clínica que la cuantificación de proteínas totales. En determinados casos, puede interesar la cuantificación de albúmina en LCR, como por ejemplo en el Síndrome de Guillain-Barré, debido a la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica⁷⁸. En LP, se estima que los criterios de Light clasifican un 25% de los trasudados incorrectamente como exudados, por lo que el propio Light propuso como criterio alternativo un valor de gradiente de albúmina entre suero y LP superior a 1,2 g/dL para identificar a aquellos derrames pleurales que puedan haber sido clasificados erróneamente⁷⁹, especialmente en pacientes que se encuentran en una situación de balance negativo de proteínas, como es el caso de los pacientes cirróticos⁸⁰.

4.3.4.2.- pH

El pH es una magnitud adimensional que representa el logaritmo decimal negativo de la actividad molal relativa del ion hidrógeno en una solución. La determinación del pH suele realizarse en sangre para determinar la eficacia del pulmón durante el proceso del intercambio gaseoso⁸¹. Los valores de referencia en sangre arterial se sitúan entre 7,35 y 7,45 (en sangre venosa: 7,32 - 7,42).

El valor del pH habitual del LCR se sitúa en torno a 7,3 y los cambios en el pH a este nivel tienen la capacidad fisiológica de regular el flujo de sangre de la arteria

cerebral, causando vasodilatación o vasoconstricción de la misma⁸². La determinación de pH en LCR aporta poca información clínica y su limitación principal es que se requiere un volumen mínimo de muestra relativamente importante, recogido en un contenedor específico (jeringa de gasometría). Por este motivo, las determinaciones de pH en LCR no se emplean en la práctica clínica, aunque pueden tener utilidad en algunos estudios de investigación en animales de experimentación⁸³.

En cambio, en LP, la determinación de pH cobra un mayor interés desde el punto de vista clínico. Cuando un agente patógeno está presente, debido a su metabolismo, se observa un descenso en el pH por debajo de valores de 7,2 en aproximadamente el 50% de las infecciones que, además, suele ir acompañado de un consumo de glucosa, con valores habitualmente por debajo de 60 mg/dL⁶⁸. No obstante, hay que tener presente que, aproximadamente, el 5-8% de los derrames pleurales ocasionados por neoplasias, cursan con descenso de ambos parámetros. Adicionalmente, algunos factores preanalíticos pueden ocasionar cambios significativos en el pH, bien hacia valores inferiores, como por ejemplo factores relacionados con la extracción de la muestra (presencia de lidocaína o de heparina en la muestra durante la extracción), o bien superiores (presencia de burbujas durante la extracción o demora de más de 4 horas en el análisis de la muestra)⁸⁴.

4.3.4.3.- Colesterol

El colesterol es un esteroide con un grupo hidroxilo secundario en posición C3 (Figura 5) que se encuentra en los tejidos corporales y el plasma sanguíneo. Se sintetiza en tejidos de varios tipos, pero esencialmente en el hígado y en la pared intestinal, y tiene una función importante en la membrana plasmática de las células regulando la entrada y salida de las sustancias.

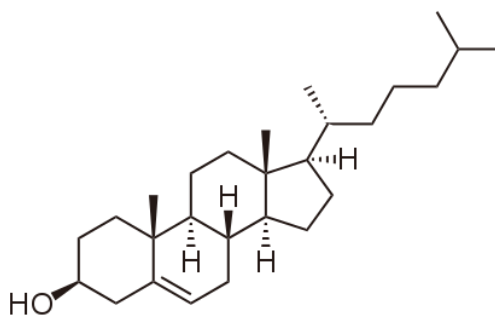


Figura 5: Molécula de colesterol

Aproximadamente, 3/4 partes del colesterol corporal se sintetizan en el retículo endoplasmático liso, mientras que el 25% restante proviene de la alimentación. La determinación del colesterol en plasma se emplea para cribar el riesgo aterógeno, así como para diagnosticar y tratar enfermedades con niveles elevados de colesterol o trastornos de los metabolismos lipídico y lípidoproteico.

La cuantificación de colesterol en líquidos biológicos tiene escaso interés clínico. Se encuentra elevado en LP cuando el derrame está causado por quilotórax, y se puede emplear como parámetro adicional a los criterios de Light para clasificar los líquidos en exudados y trasudados, con el punto de corte en 45 mg/dL^{71,85}.

4.4.- Marcadores de infección

4.4.1.- Proteína C Reactiva (PCR)

La PCR es una proteína pentamérica no glicosilada de 118 KDa perteneciente a la familia de las pentraxinas cortas (Figura 6). Está codificada en el cromosoma 1, se sintetiza en los hepatocitos y es almacenada en el retículo endoplásmico. La PCR es un reactante de fase aguda y se libera en respuesta al estímulo de la IL-6, uniéndose a las moléculas de fosfocolina de las células afectadas por daño tisular, como la inflamación, neoplasia o infecciones, e iniciando la activación del complemento⁸⁶.

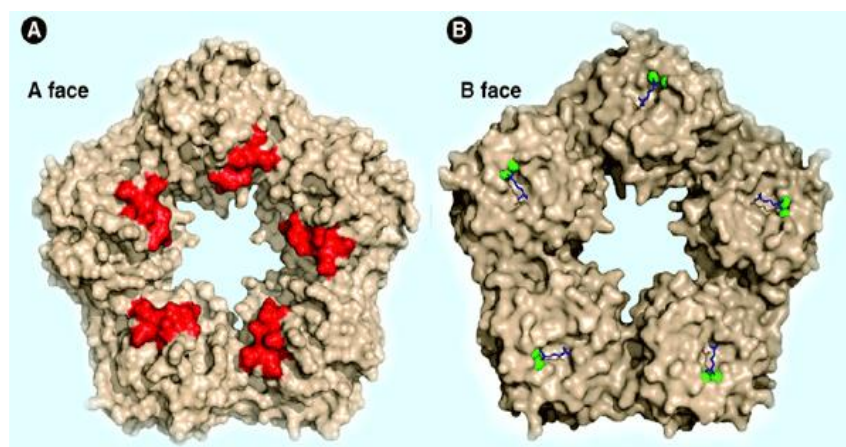


Figura 6: Estructura pentamérica de la PCR. (A) Estructura tridimensional de la cara A del pentámero en el que se aprecia el punto de unión con C1q. (B) Modelo tridimensional de la molécula de PCR mostrando una molécula de fosfocolina (azul) con las dos moléculas de calcio (verde) localizadas en el sitio de unión de cada protómero de la cara B⁸⁶

La respuesta de la PCR frecuentemente precede a síntomas clínicos como la fiebre. En individuos sanos, se detectan concentraciones plasmáticas de hasta 0,5 mg/dL. Al iniciarse la respuesta de fase aguda, la concentración sérica de la PCR aumenta rápidamente y pueden detectarse incrementos importantes tras 6 a 8 horas, alcanzándose el valor máximo pasadas 24 a 48 horas.

Elevaciones de PCR plasmática, hasta concentraciones de 8 mg/dL, son habituales en enfermedades inflamatorias crónicas (artritis reumatoide –AR–, fiebre reumática y enfermedad inflamatoria intestinal). En el caso de cirugía, lesiones, tumores, isquemia, rechazo de trasplantes o necrosis hepática, se pueden observar valores en torno a 25 mg/dL. Los niveles más elevados, por encima de 30 mg/dL, aparecen en infecciones bacterianas agudas, pero también en neoplasias, cirugía, traumatismos serios o infartos agudos de miocardio. Por el contrario, las infecciones víricas suelen presentar valores inferiores. Por último, en determinadas situaciones no se produce elevación destacable de PCR: enfermedades autoinmunes (Lupus, esclerodermia), embarazo, ejercicio, angina de pecho, accidente cerebrovascular, resfriados comunes y asma⁸⁷.

Debido a su corta vida media, la PCR es una herramienta útil para el seguimiento clínico de diversas patologías. Por ejemplo, en el seguimiento de un postoperatorio, la ausencia de descenso de PCR hasta valores normales aporta valor pronóstico de complicaciones inesperadas. En el caso de las infecciones, la persistencia de concentraciones altas también es un índice predictivo de mal control de la infección.

4.4.2.- Procalcitonina (PCT) sérica

La PCT es una proteína soluble descrita por primera vez en 1993 como una proteína asociada a la infección bacteriana y la sepsis⁸⁸. Consta de 114-116 aminoácidos (según modificaciones postraduccionales), y su secuencia es idéntica a la proteína precursora de la hormona calcitonina⁸⁹. Tanto la PCT como la calcitonina se sintetizan a partir del gen CALC-I, localizado en el cromosoma 11, y comparten la misma secuencia de aminoácidos en su zona central⁹⁰. En condiciones fisiológicas, ambas proteínas se sintetizan en células neuroendocrinas con actividad hormonal, principalmente en las células C de la glándula tiroides. En cambio, en una situación de infección, para que se

produzca la inducción de PCT es necesaria una adhesión de monocitos estimulados con células adipocitas⁹¹. La necesidad de esta interacción célula-célula explicaría por qué en infecciones locales, la inducción de PCT apenas se produce, y las concentraciones plasmáticas de esta proteína se asemejan a las de personas sanas, generalmente por debajo de 0,1 ng/mL.

Las infecciones bacterianas, caracterizadas por una reacción inflamatoria sistémica, inducen la síntesis de PCT en casi todos los tejidos, pero especialmente en el hígado, por interacciones celulares entre adipocitos y monocitos, aumentando las concentraciones observadas en plasma (PCT > 0,1 ng/mL). Si la concentración plasmática de PCT supera el umbral de 0,5 ng/mL se debe considerar la sospecha de una posible sepsis (Figura 7). Por otra parte, existen situaciones en que la PCT se induce sin evidencia de infección bacteriana⁹², por ejemplo, en los primeros días tras una cirugía o un traumatismo grave (entre 1 y 2 ng/mL)⁹³, durante un shock circulatorio persistente (>1,4 ng/mL, con valores en ascenso continuo)⁹⁴, en la disfunción orgánica múltiple (aproximadamente 0,5 ng/mL)⁹⁵, pancreatitis (entre 0,5 ng/mL en los estadios leves; 0,5 a más de 1,5 ng/mL en los estadios graves)⁹⁶, estadios finales de enfermedades tumorales⁹⁷, y en la insuficiencia hepática (0,5 ng/mL)⁹⁸ e insuficiencia renal (entre 0,5 y 1,5 ng/mL)⁹⁹.

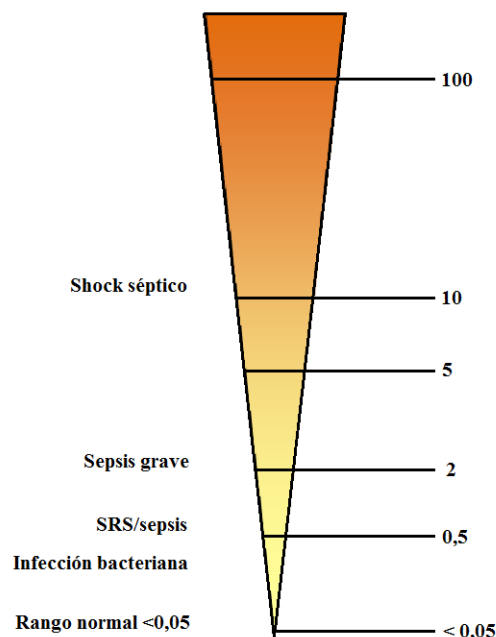


Figura 7: Puntos de corte de PCT asociados a diferentes patologías⁹²

En la sospecha de meningitis bacteriana, la PCT sérica puede aportar un nivel de seguridad adicional, puesto que valores de PCT superiores a 0,5 ng/mL, junto con la sintomatología del paciente, pueden apuntar hacia el diagnóstico de una probable meningitis bacteriana, o de una sepsis. Aunque hace ya más de quince años que se postuló como un potencial marcador de interés para realizar el diagnóstico diferencial de la meningitis infecciosa,^{100,101} no existe evidencia bibliográfica de que esta utilidad haya sido demostrada posteriormente. Sin embargo, se ha descrito que cuando la PCT presenta valores normales o bajos, se podrían descartar ambos diagnósticos, o incluso podría tratarse de un cuadro de meningitis vírica, donde raramente las concentraciones de PCT superan 0,5 ng/mL¹⁰².

Por otra parte, en las infecciones bacterianas locales, como es el caso de drenajes de LCR infectados, la sensibilidad de la PCT ha demostrado ser muy limitada¹⁰³. Algunos autores han demostrado que las concentraciones que se observan en LCR son inferiores a las obtenidas en plasma¹⁰⁴, o incluso pueden llegar a ser indetectables en un número importante de pacientes¹⁰⁵, por lo que la medición de PCT en LCR aún no ha podido ser descrita como un marcador de utilidad clara, debido a sus limitaciones.

Con respecto a la neumonía, aunque la respuesta inflamatoria sistémica está presente, diversos estudios han observado que las concentraciones de PCT plasmática no siempre son tan elevadas, tanto en neumonía bacteriana y tuberculosis como en neumonía vírica. Algunos autores describen que el 50% de los pacientes con estos diagnósticos presentan niveles por debajo del punto de corte para la sepsis (<0,5 ng/mL), e incluso valores de normalidad (PCT < 0,1 ng/mL) hasta en un 28% de los casos¹⁰⁶. La inducción de PCT dependerá de diversos factores, como el tipo de agente, la gravedad de la neumonía y el grado de respuesta inflamatoria sistémica^{107,108,109}. Las concentraciones parecen ser más elevadas (>2 ng/mL) en las NAC, en las que la bacteria alcance el torrente sanguíneo, si bien podemos encontrar concentraciones inferiores a 1 ng/mL en algunos casos de NAC diagnosticados por medio de cultivo de esputo, así como en neumonías causadas por otros agentes, como *Mycoplasma pneumoniae* o agentes víricos (Figura 8).

En algunos estudios se observó correlación entre niveles bajos de PCT y pacientes con neumonía clasificada como de bajo riesgo según la escala FINE. Incluso

se ha descrito que, dentro de los grupos de mayor riesgo y escala FINE alta, los pacientes con niveles bajos de PCT presentaron un riesgo de mortalidad alto, por lo cual la PCT puede aportar indicaciones en cuanto al riesgo y la progresión de la enfermedad^{106,110}.

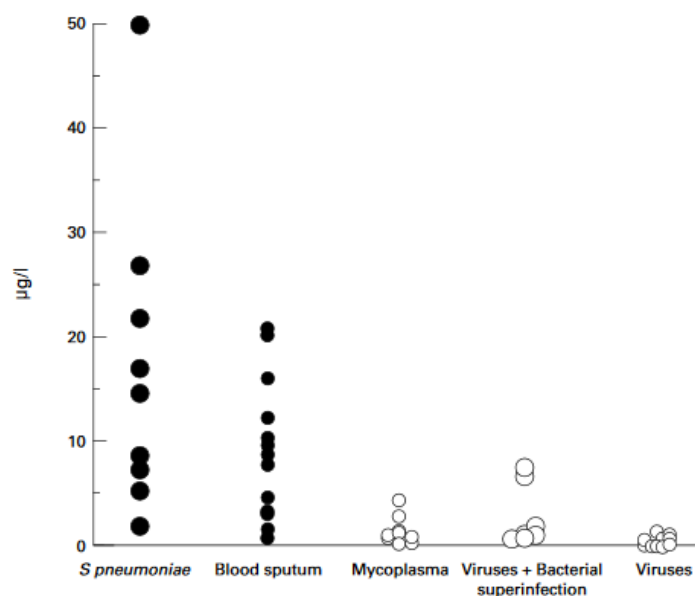


Figura 8. Valores individuales de PCT en diferentes grupos de pacientes (población pediátrica). De izquierda a derecha: 1) NAC con cultivo positivo de *S. pneumoniae* en sangre, 2) NAC con cultivo positivo en esputo, 3) test serológico positivo para *Mycoplasma pneumoniae*, 4) neumonía vírica con sobreinfección bacteriana, 5) neumonía vírica¹¹¹

La cuantificación de PCT en LP tiene una utilidad similar a su cuantificación en plasma. Mientras que valores muy elevados de PCT en algunos estudios se asocian con la presencia de empiema¹¹², en general, los valores obtenidos son bajos (<0,2 ng/mL) y aportan información clínica muy limitada, similar a la PCR, por lo que parece preferible el diagnóstico clínico o con otros marcadores, como el recuento celular^{113,114}.

4.4.3- Adenosina desaminasa (ADA)

La ADA es una enzima que interviene en el metabolismo de las purinas. Promueve la desaminación irreversible de la adenosina, dando como resultado un ion amonio e inosina, la cual puede continuar su proceso metabólico transformándose en hipoxantina¹¹⁵ (Figura 9).

La ADA es una enzima muy ubicua, pero casi un 90% de su actividad se localiza en tejidos con gran participación linfoide (timo y bazo), en hematíes, monocitos y macrófagos. Interviene en el desarrollo y mantenimiento del sistema inmune, principalmente promoviendo la diferenciación y proliferación linfocítica. También interviene, en menor medida, en la diferenciación de células epiteliales, en la gestación

y en los sistemas de señalización celular que involucran los receptores acoplados a las proteínas G¹¹⁶.

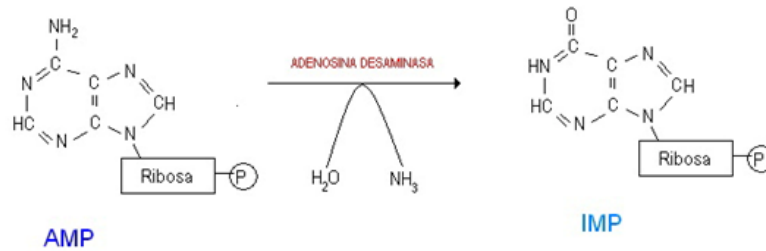


Figura 9: Reacción irreversible de desaminación de Adenosina monofosfato en inosina monofosfato mediada por ADA

El interés del estudio de las concentraciones de ADA surgió tras demostrarse asociación entre el descenso por debajo de sus valores normales y la inmunodeficiencia congénita combinada severa (SCID), aunque también se ha descrito disminución en pacientes con leucemia linfocítica crónica¹¹⁷. Sin embargo, en la actualidad, ante una sospecha clínica de de SCID el diagnóstico definitivo se realiza por medio de cultivos celulares de linfocitos del paciente y también por medio de diagnóstico molecular.

Por ese motivo, el estudio de las concentraciones de ADA se limita al estudio de líquidos biológicos (LCR, LP y pericárdico). Se eleva en ciertos líquidos biológicos en el curso de enfermedades que presentan fundamentalmente una respuesta inmune de tipo celular, como la tuberculosis, hepatopatías, enfermedades autoinmunes o infecciosas, cobrando especial importancia en el diagnóstico de procesos tuberculosos.

La meningitis tuberculosa es la forma más común de neurotuberculosis causada por *Mycobacterium tuberculosis*, pero su diagnóstico suele ser dificultoso, especialmente en población pediátrica, y esta afección suele conllevar mal pronóstico neurológico. Los valores normales de ADA en LCR se sitúan entre 0 y 5 UI/L. A pesar de no existir consenso en los laboratorios clínicos, se emplean puntos de corte entre 5 y 15 UI/L para establecer el diagnóstico de la meningitis tuberculosa. En LP, los puntos de corte más frecuentes en la bibliografía se sitúan en una concentración inferior a 45 UI/L para descartar tuberculosis, y superior a 70 UI/L para confirmarla. Valores por encima de 100 UI/L presentan elevada especificidad para el diagnóstico de tuberculosis¹¹⁸.

5.- INTERLEUKINA-6

Las interleukinas fueron descubiertas en la década de 1970 como un grupo de moléculas mensajeras que permiten a las células del sistema inmunológico comunicarse entre sí y generar una respuesta coordinada y específica frente a un antígeno diana¹¹⁹. Normalmente, las interleukinas son secretadas por las células del sistema inmune con el fin de localizar una célula objetivo hostil, para lo cual se adhieren a ellas a través de receptores específicos en la superficie celular. Este acoplamiento desencadena una cascada de eventos dentro de la célula diana que, finalmente, alteran el comportamiento de dicha célula. Además, las interleukinas poseen una variedad de funciones inmunomoduladoras que guían la maduración de células del sistema inmune, así como su diferenciación, migración y adhesión^{120,121}.

La interleukina-6 (IL-6), también denominada interferón-beta 2, es una glucoproteína de 26 kDa estimuladora de la síntesis del factor 2 por parte de los linfocitos B. La IL-6 es una citocina pleiotrópica con estructura de α -hélice que juega un papel importante en las reacciones de fase aguda, inflamación, infecciones, hematopoyesis, metabolismo óseo y progresión del cáncer (Figura 10)¹²². Esta actividad de la IL-6 es esencial para la transición desde una inflamación aguda tanto para el desarrollo de inmunidad adquirida como para la aparición de una inflamación crónica.

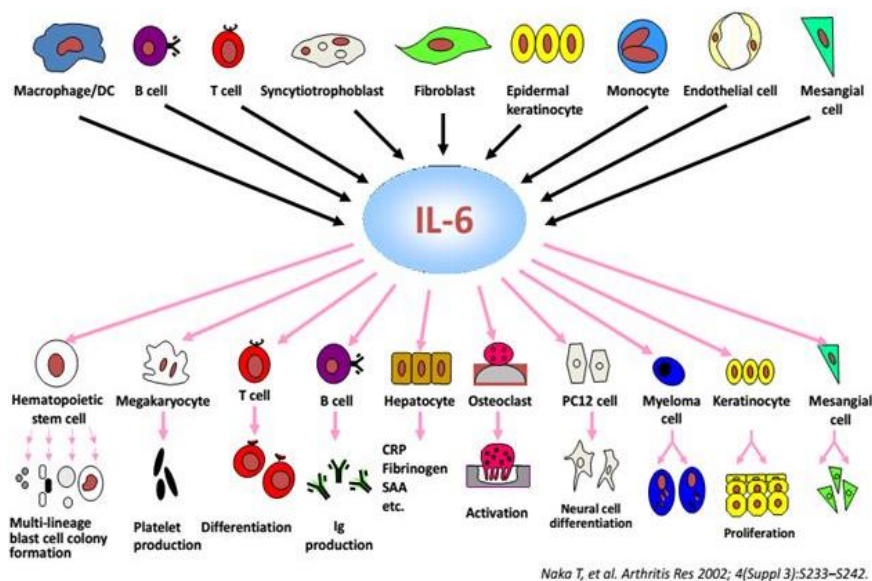


Figura 10: La producción de IL-6 tiene lugar en diversas células, como linfocitos T, linfocitos B, monocitos, fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, células mesangiales y algunos tipos de tumor. Del mismo modo, la IL-6 presenta un amplio rango de actividades biológicas sobre un gran número de células diana¹²³.

La síntesis de la IL-6 se codifica en el cromosoma 7. Es expresada y secretada por múltiples células, principalmente por linfocitos T, macrófagos y fibroblastos, como un polipéptido fosforilado, de entre 22 y 28 kDa, con diversos grados de glicosilación¹²³. La IL-6 humana madura es un péptido de 183 aminoácidos de longitud y que comparte un 41% de su secuencia aminoacídica con la IL-6 del ratón y de la rata. En el procesamiento postranscripcional se forman diversas isoformas, provocando deleciones internas y resultando en diversos grados de actividad de la IL-6¹²⁴.

La IL-6 induce la señalización a través de un receptor heterodimérico de superficie celular compuesto por una subunidad de unión a ligando (IL-6R), también conocido como DC126, y una subunidad de transducción de la señal, denominada glicoproteína 130 (gp130). La expresión de la subunidad gp130 es ubicua y es empleada por otras citocinas (interleukina 11, interleukina 27) como co-receptor; sin embargo, la subunidad IL-6R está predominantemente restringida a hepatocitos, linfocitos y leucocitos. Cuando la IL-6 se une a la subunidad IL-6R de estas células, esta subunidad, a su vez, se une a la gp130, formándose el dímero, en un mecanismo conocido como trans-señalización. Este complejo es capaz de inducir la respuesta de células que expresan en su superficie gp130, pero carecen de IL-6 R permitiendo, de esta forma, que un mayor número de células pueda responder al estímulo de IL-6¹²⁵.

5.1.- IL-6 en las enfermedades no infecciosas

La IL-6 estimula la inflamación y la respuesta autoinmune en numerosos procesos, como el lupus eritematoso sistémico, mieloma múltiple, cáncer, AR y enfermedad de Behçet. En ausencia de patología no infecciosa, se han descrito coeficientes de variación (CV) elevados: 48,8% en el CV intraindividual y 39,38% en el interindividual¹²⁶.

En la patogénesis de la AR, una enfermedad inflamatoria sistémica autoinmune, se encuentran involucradas la IL-1, IL-6 y el TNF- α en respuesta a la producción anómala de anticuerpos anti-peptídicos cíclicos citrulinados, responsables de iniciar el proceso inflamatorio¹²⁷. En el tratamiento de dicha enfermedad, se han empleado tradicionalmente fármacos para el alivio de los síntomas, como AINES y corticoides, que presentan una utilidad moderada. En cambio, los fármacos modificadores de la

enfermedad, como metotrexato, azatioprina o sulfasalazina, representan el tratamiento básico y fundamental de la AR por su capacidad de enlentecer la progresión de la enfermedad. No obstante, recientemente se están introduciendo en el tratamiento de la AR nuevos fármacos que aportan un mejor perfil de seguridad y eficacia, entre los que destaca tocilizumab, un anticuerpo monoclonal capaz de bloquear la acción de la IL-6¹²⁸.

El cáncer es una enfermedad compleja desde el punto de vista molecular y de su patogénesis. En los últimos años, se han realizado importantes avances demostrando que algunas citocinas se encuentran involucradas en la regulación del desarrollo del tumor por varios mecanismos, como una estimulación directa del estroma celular, favoreciendo su expansión, o bien tratando de controlar su crecimiento desarrollando una respuesta inmune frente al mismo. Algunos tumores son capaces de desarrollar mecanismos que les permiten escapar a dicha respuesta inmune, lo cual abre las puertas a nuevos fármacos inmunomoduladores en la terapia contra el cáncer¹²⁹.

Se ha observado que la IL-6 desempeña un papel importante en la regulación del crecimiento de algunos tumores, como por ejemplo induciendo la transformación de células del epitelio mesenquimal mamario en células tumorales capaces de expresar el antígeno CD44+ de forma análoga a las células madre¹³⁰. Otro mecanismo descrito en pacientes con inflamación crónica de la cavidad oral, postula que la IL-6 media en la hipometilación de determinadas secuencias de ADN (Ácido desoxirribunocleico), favoreciendo el desarrollo de carcinoma epidermoide oral¹³¹.

Recientemente, se ha demostrado asociación entre la mayor gravedad del proceso asmático en pacientes que presentan concentraciones más elevadas de IL-6, debido a inflamaciones sistémicas o bien a alteraciones metabólicas, como obesidad, diabetes o hipertensión¹³².

5.2- IL-6 y enfermedades infecciosas

La importancia de la IL-6 en las enfermedades infecciosas guarda relación con su cinética respecto a la de otros marcadores. La inducción ocurre muy rápido, desde el mismo momento en el que sucede un evento de inducción aguda (por ejemplo, una

intervención quirúrgica o una inyección de endotoxinas). Se observan aumentos significativos de las concentraciones plasmáticas de IL-6 durante las siguientes 72 horas, alcanzándose valores máximos entorno a las 2 horas tras el estímulo, y precede a la estimulación del resto de reactantes de fase aguda, como la PCR y otros marcadores de infección, como la PCT, que presentan cinéticas más lentas (

Figura 11)¹³³.

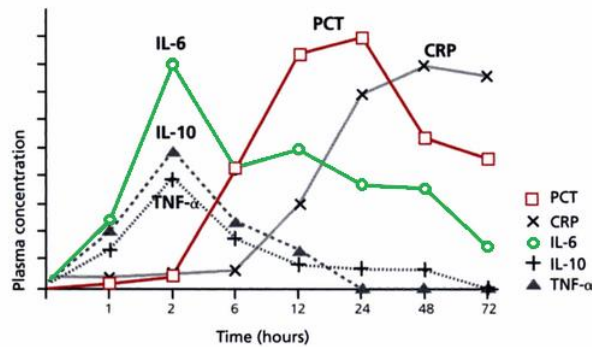


Figura 11: Cinética de PCT, PCR, IL-6, IL-10 y TNF durante las primeras 72 horas de un estímulo infeccioso¹³³

A diferencia de la PCT, la IL-6 no requiere una interacción célula-célula para que se produzca su inducción, sino que su síntesis se estimula por endotoxinas y otras citocinas. El desarrollo de reacciones inflamatorias asociadas a lesiones, traumas, estrés, infecciones, cirugía y neoplasias desencadena rápidamente la producción de IL-6. Las determinaciones secuenciales de IL-6 en suero y plasma han demostrado ser útiles para evaluar la gravedad del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. También ha demostrado ser un marcador útil para el diagnóstico de sepsis y, a pesar de mostrar una sensibilidad y especificidad inferior a la PCT¹³⁴, algunos autores han descrito la capacidad de la IL-6 para predecir su desenlace¹³⁵. La IL-6 cumple también un papel destacado en inflamaciones crónicas como la AR.

En pediatría, es frecuente el empleo de IL-6 como marcador de infección o de sepsis precisamente gracias a esta rápida inducción, de especial importancia en recién nacidos, donde constituye un marcador precoz en la detección de la sepsis neonatal⁹². En recién nacidos sanos, la IL-6 se eleva en las primeras 3-4 horas tras el nacimiento, y la vida media de la IL-6 es de 24 horas, disminuyendo los valores hasta hacerse indetectable a las 24-48 horas. La cuantificación de IL-6 en sangre procedente de cordón umbilical se emplea para el cribado de infección de transmisión vertical, en

neonatos asintomáticos con factores de riesgo, con una alta sensibilidad y alto valor predictivo negativo¹³⁶.

Nuestro grupo de investigación estableció el punto de corte en sangre de cordón en 30 pg/mL¹³⁷, así como valores de referencia de IL-6 en suero de pacientes en edad neonatal: < 300 pg/mL, durante los tres primeros días de vida, y < 85 pg/ml a partir del tercer día de vida (datos no publicados).

6.- MR-proADM (Fragmento de la región media de Proadrenomedulina)

La adrenomedulina (ADM) es una hormona circulante que fue descubierta en 1993 en tejido de feocromocitoma humano, cuya principal actividad biológica es producir vasodilatación¹³⁸. La ADM se sintetiza en una gran variedad de tejidos, y sus niveles plasmáticos se elevan en varias patologías cardiovasculares y renales, así como en el shock séptico.

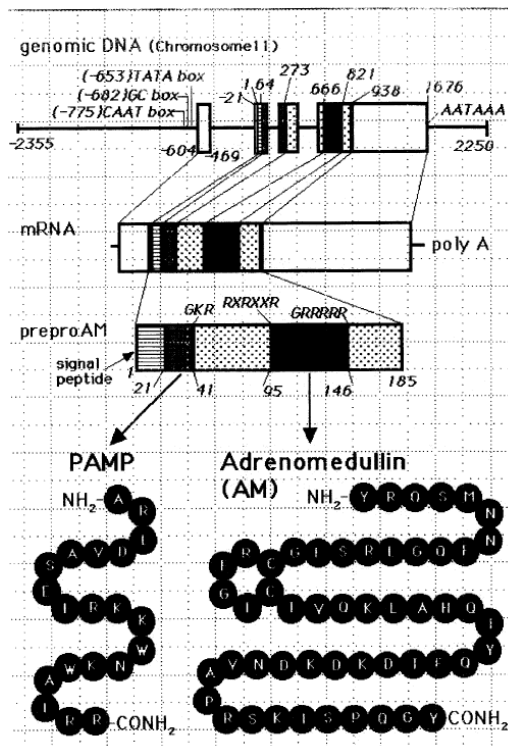


Figura 12. Estructura del gen de la ADM. Tras su expresión, se sintetiza la molécula de preproadrenomedulina, y tras las modificaciones postraduccionales, se escinde en un péptido N-terminal de 20 aminoácidos, (PAMP, proadrenomedulina) y en ADM, un péptido de 52 aminoácidos¹³⁹

El gen de la ADM se localiza en el cromosoma 11 (Figura 12). En primer lugar, se sintetiza la preproadrenomedulina, una secuencia de 185 aminoácidos, que posteriormente sufre dos modificaciones postraduccionales para generar la proADM, y

finalmente la ADM, de 52 aminoácidos¹³⁹. La ADM se encuentra en gran número de fluidos biológicos, como sangre, orina, LCR, líquido ascítico, fluido amniótico y leche. A nivel de tejidos predomina en la médula adrenal, aunque en menor concentración se puede encontrar en corazón, riñón y pulmón^{140,141}.

Ambos péptidos presentan actividad hipotensora gracias al residuo N-terminal de 20 aminoácidos, que actúa sobre la proteína G acoplada a receptores en el endotelio vascular^{142,143}. Sin embargo, el efecto es más intenso en ADM que en proADM, lo cual podría deberse a que emplean diferentes vías de señalización celular: mientras que proADM actúa inhibiendo la liberación de noradrenalina en el espacio sináptico de las terminaciones nerviosas, la ADM produce una vasodilatación directa mediada a través de AMPc^{144,145}.

El fragmento de la región media de la molécula de proadrenomedulina (MR-proADM) está compuesto por los aminoácidos 24 a 71 de dicha molécula. Aunque no presenta actividad biológica, es secretada de forma equimolecular respecto a la proADM, presenta mayor estabilidad en plasma, y es más fácil de cuantificar¹⁴⁶. Se han descrito valores plasmáticos elevados de MR-proADM en pacientes con sepsis, neumonía, EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica), infarto de miocardio, y fallo renal, asociándose también con alta mortalidad en dichas patologías¹⁴⁷.

En la sepsis, la elevación de ADM en circulación sanguínea podría estar estimulada, en primer lugar, por la liberación de citocinas en respuesta al agente infeccioso; en segundo lugar, como mecanismo vasodilatador en respuesta a las propias anomalías cardiovasculares que caracterizan a los órganos afectados por la sepsis; por último, la elevación podría producirse también por un descenso en su aclaramiento por afectación del flujo renal¹⁴⁸.

Por otra parte, en el infarto de miocardio, los niveles de ADM y proADM se elevan de forma inmediata tras la aparición del cuadro, y se mantienen niveles elevados durante 3 semanas que, posteriormente, disminuyen. En la fase inicial del infarto, existe correlación entre las concentraciones plasmáticas de ADM, la presión arterial, la presión de la arteria pulmonar y la frecuencia cardiaca. Esta liberación de ADM actúa como mecanismo de defensa contra elevaciones adicionales de la resistencia vascular

periférica y pulmonar^{149,150}. Concentraciones plasmáticas de ADM muy elevadas, en el segundo día tras el inicio del infarto de miocardio, parecen estar fuertemente asociadas con mortalidad a largo plazo, de forma similar a otros marcadores pronósticos empleados habitualmente, como la fracción de eyección ventricular izquierda¹⁵¹.

Pero, sin duda, el escenario donde la proADM ha suscitado mayor interés en los últimos años en la comunidad científica, ha sido su valor diagnóstico y pronóstico en las afecciones pulmonares, como EPOC, disnea y NAC. La disnea aguda es un cuadro que se presenta con frecuencia en los servicios de urgencias hospitalarias, y en el que es importante esclarecer si es de origen cardiaco, pulmonar o bien de otro tipo, además de estratificar el riesgo que presenta el paciente. Tras la evaluación clínica del paciente, se ha demostrado que MR-proADM, tanto en solitario como junto a los péptidos natriuréticos, tiene utilidad a la hora de clasificar a los pacientes de riesgo, y de establecer el riesgo de mortalidad a 30 días, 90 días y 1 año^{147,152}.

El MR-proADM también ha sido ampliamente en la NAC en numerosos estudios, mostrando ser un marcador útil y robusto a la hora de apoyar en el diagnóstico, estratificar la gravedad de los pacientes y su pronóstico, así como en evaluar la eficacia de los tratamientos aplicados^{153,154,155}. Uno de los estudios más relevantes de los últimos años, el estudio CAPNETZ valoró la utilidad pronóstica de mortalidad de la medida de MR-proADM plasmática en 1740 pacientes con NAC. Este estudio describió que la mortalidad a 28 y 120 días era superior en aquellos pacientes que presentaban al ingreso valores de 110 y 102 pmol/L, respectivamente, mostrando mayor eficacia diagnóstica que otros marcadores, como recuento leucocitario sanguíneo, PCR, PCT y vasopresina¹⁵⁶.

Aunque la mayoría de estudios llevados a cabo sobre este marcador han sido realizados en muestras de plasma, existe un único antecedente bibliográfico que ha cuantificado este marcador en LP, mostrando un comportamiento limitado con respecto a los péptidos natriuréticos a la hora de establecer el diagnóstico de insuficiencia cardiaca¹⁵⁷.

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

1.- JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

A día de hoy, las enfermedades infecciosas, y especialmente la meningitis y la neumonía, constituyen un problema de salud en todo el mundo, especialmente en países en vías de desarrollo, cuyas estructuras sanitarias son débiles, y dichas enfermedades presentan una alta mortalidad. Además, en ambas enfermedades infecciosas, el diagnóstico precoz, y la instauración del tratamiento adecuado, sigue siendo un reto para los clínicos, especialmente cuando los síntomas no son claros, o cuando se desconoce por completo la etiología del agente causante de la enfermedad.

Por otra parte, la aparición de resistencias a los antibióticos supone poner en compromiso el arsenal terapéutico del que actualmente disponemos para combatir a los agentes patógenos, especialmente cuando éstos se emplean de forma indiscriminada.

Aunque tradicionalmente se han considerado que las pruebas del laboratorio de microbiología son el “*gold standard*” para alcanzar el diagnóstico de forma certera, la realidad es bien diferente, ya que los falsos negativos son relativamente frecuentes, y el informe de resultados puede demorarse varios días, incluso empleando la tecnología más puntera.

En este contexto, el recuento celular, y la cuantificación de glucosa y proteínas, tanto en LCR como en LP, son de gran utilidad al clínico para alcanzar el diagnóstico del paciente en poco tiempo. Sin embargo, los marcadores tradicionales presentan limitaciones de sensibilidad y especificidad y, en ocasiones, clasifican incorrectamente a los pacientes.

Sería deseable contar con marcadores adicionales que pudieran ser empleados en los líquidos biológicos y que permitieran, en aquellos escenarios que puedan plantear dudas a los clínicos, apoyar y orientar al diagnóstico de forma correcta.

2.- HIPÓTESIS

Durante los procesos infecciosos se produce una respuesta inmunitaria que da lugar a la producción incrementada de citocinas proinflamatorias. La IL-6 es una citocina pleiotrópica que juega un papel importante en la reacción de fase aguda y su actividad es esencial para la transición desde una inflamación aguda tanto para el desarrollo de inmunidad adquirida como para la aparición de una inflamación crónica.

Diversos estudios han demostrado que se produce una elevación de las concentraciones plasmáticas circulantes de IL-6 durante los procesos infecciosos, y el estudio de la cinética de dicho marcador ha permitido observar que se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas en un menor tiempo con respecto a marcadores clásicos.

Por otra parte, en la sepsis, la elevación de ADM parece estar causado por la liberación de las citocinas en respuesta al agente infeccioso, además de las alteraciones cardiovasculares de los órganos afectados. En el caso de MR-proADM, ha demostrado ser un marcador útil, medido en plasma, en el estudio de la neumonía.

En aquellas infecciones relacionadas estrechamente con los órganos protectores del SNC y el pulmón (meninges y pleura), las concentraciones de IL-6 y MR-proADM podrían estar elevadas en los líquidos biológicos involucrados durante el proceso infeccioso (LCR y LP). Cabe pensar que dicha elevación aportaría precocidad diagnóstica, al no tener que esperar a que se produzca una elevación de dichos marcadores en sangre periférica. Esta hipótesis adquiere mayor relevancia si se tiene en cuenta que el diagnóstico tradicional ya suele ir acompañado de un procedimiento invasivo para recoger dichos líquidos biológicos, de los que podría por tanto obtenerse mayor rendimiento e información.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar y comparar el rendimiento de los marcadores de infección IL-6 y MR-proADM con los parámetros clásicos (recuento celular, glucosa, proteínas, LDH) en el diagnóstico de meningitis bacteriana y NAC en líquidos biológicos (LCR y LP, respectivamente), en pacientes sometidos a una punción lumbar o toracocentesis diagnóstica.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Validar la cuantificación de MR-proADM en el sistema Kryptor Compact empleando como matriz LP recogido en tubos heparinizados.
- Evaluar la capacidad de IL-6 y MR-proADM en la clasificación de LP entre exudados y trasudados, en comparación con los criterios clásicos de Light y su capacidad para reclasificar líquidos erróneos.
- Determinar si IL-6 y MR-proADM son útiles en el pronóstico de desenlaces desfavorables (complicaciones neurológicas, fallecimiento) a corto plazo (30 días) en los pacientes a los que se les practica punción lumbar o toracocentesis, en comparación con los algoritmos empleados en la actualidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio retrospectivo de corte transversal en el Hospital Universitario Central de Asturias en el que se incluyeron aquellos pacientes de los que se disponía de LCR o LP tras punción lumbar o toracocentesis con fines asistenciales. La extracción de los LCR tuvo lugar por parte de los servicios de Neurología y Medicina Intensiva; y en el caso de los pleurales, por parte de Neumonía, Cirugía Torácica y Medicina Intensiva. A todos los pacientes les fue solicitado el Consentimiento Informado, de acuerdo a los protocolos establecidos en el Hospital Universitario Central de Asturias.

Todas las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Respuesta Rápida, en el servicio de Bioquímica Clínica. Los LCR se recogieron entre los meses de enero y junio de 2008, y posteriormente se realizó una segunda recogida entre los meses de febrero y noviembre de 2013. Los LP se recogieron entre los meses de octubre de 2014 y mayo de 2016.

1.1.- Criterios de inclusión

Inicialmente se incluyeron a todos los pacientes que fueron sometidos a punción lumbar o toracocentesis, sin conocer sus características clínicas. De todas las muestras remitidas al laboratorio, solo se incluyeron en el estudio aquellos líquidos que cumplieran con los criterios de aceptación de calidad analítica establecidos por el laboratorio y en las siguientes condiciones:

- Muestras identificadas de forma inequívoca con una pegatina con código de barras asociado a un número de muestra asignado por el sistema informático del hospital. Además, en la pegatina debía ser legible el nombre del paciente, número de historia clínica y hora de extracción.
- Muestras recogidas a través de punción lumbar/toracocentesis y que fueron recogidas según los protocolos del laboratorio en cuanto al tipo de contenedor y tiempo de entrega. Se desecharon muestras procedentes de drenajes, muestras recogidas en contenedor inadecuado, o cuya entrega al laboratorio se había demorado en el tiempo.
- Muestras que presentaran volumen suficiente para poder procesar todos los parámetros analíticos solicitados por el médico peticionario.

Además de todo lo anterior, en caso de que a un mismo paciente se le practicasen varias punciones/toracocentesis en el transcurso de un episodio, para el estudio sólo se incluyó la primera de las muestras.

De esta forma, al inicio del estudio se contaba con 1326 muestras de LCR y 620 muestras de LP que cumplían los criterios de inclusión.

1.2.- Criterios de exclusión

Tras la recogida inicial, se procedió a consultar las historias clínicas de los pacientes de los que se disponía de una muestra adecuada para el estudio correspondiente, con vistas a identificar posibles motivos de exclusión, de acuerdo a los siguientes criterios:

- Historias médicas incompletas (por omisión de informes o por traslado del paciente a otro centro), que impedían establecer con garantía si el proceso había sido infeccioso o no; o bien, procesos no infecciosos sin etiología claramente establecida (LCR, n = 192: LP, n = 98).
- En pacientes con patología infecciosa (neumonía, meningitis), aquellos cuya extracción se demoró 4 o más días desde la aparición de los síntomas hasta la extracción del líquido (LCR, n = 17: LP, n = 12).
- Pacientes cuya patología infecciosa estuvo asociada a bacterias del género *Mycobacterium* (LCR, n = 7: LP, n = 13), así como agentes causantes de otras entidades infecciosas del SNC poco frecuentes (LCR, n = 14), como meningitis fúngica, neuroborreliosis y neurocisticercosis.
- Estudio en LCR: Pacientes que presentaban infecciones concomitantes diferentes a la meningitis objeto de estudio, como neumonía, otitis, infecciones de las vías urinarias (LCR, n = 181), oncológicos (n = 318), con hemorragia subaracnoidea (n = 68) o accidente cerebrovascular (n = 152).
- Estudio en LP: en pacientes sometidos a toracocentesis de repetición sin causa infecciosa, se excluyeron todas las muestras de seguimiento (LP, n = 109), incluyendo únicamente la primera muestra tomada. Asimismo, se excluyeron los casos en los que el origen de la infección fue el medio hospitalario (n = 13) y aquellos cuya toracocentesis se había indicado por traumatismo o cirugía (n = 36)

De esta forma, se excluyeron un total de 949 muestras de LCR y 281 muestras de LP.

1.3.- Población de estudio

La población de estudio inicial estaba constituida por 1959 pacientes, de los cuales a 1326 se les había realizado una punción lumbar y a 633 una toracocentesis. Tras aplicar los criterios de exclusión, la población se redujo a 752 pacientes: 377 a los cuales se les había realizado punción lumbar, y a 339 una toracocentesis.

La confirmación de los diagnósticos se realizó mediante revisión de las historias clínicas, en el periodo de seguimiento comprendido entre la fecha de ingreso y la fecha de alta del paciente.

1.3.1.- Estudio de marcadores para el diagnóstico de meningitis bacteriana.

De las 1326 muestras de LCR recogidas en el periodo de estudio, un total de 949 muestras (71,5%) fueron descartadas de acuerdo a los criterios de exclusión. Los 377 pacientes restantes se clasificaron en dos grupos: pacientes con un cuadro clínico asociado a agentes patógenos (casos; $n = 106$), y pacientes que presentaban otros cuadros clínicos ($n = 271$) (Figura 13).

Por motivos éticos, no fue posible contar con un grupo de control (individuos sanos) sometidos a punción lumbar. Por ese motivo, el grupo control se estableció a partir de los 271 (71,8%) pacientes cuya punción lumbar se practicó en el mismo periodo temporal que en los casos, pero indicada por patologías no infecciosas. Se calculó el tamaño muestral necesario para tener un 80% de potencia estadística con un grado de significación del 5%, con vistas a poder identificar diferencias en el rendimiento diagnóstico de los marcadores comparados (medido en términos de área bajo la curva (AUC) de rendimiento diagnóstico (ROC) de al menos un 20%. De acuerdo con el resultado de dicha estimación, se seleccionaron aleatoriamente un total de 44 pacientes en calidad de controles, cuyas indicaciones para la toma de muestra fueron punciones evacuadoras por hidrocefalia, drenaje por elevación de la presión intracraneal, administración intratecal de fármacos y diversos estudios de enfermedades neurológicas, como enfermedad de Alzheimer, demencia, parálisis facial o amnesia.

El grupo de casos, se estratificó para su posterior análisis en función de si existía confirmación con pruebas microbiológicas (cultivo o PCR) y del tipo de patógeno:

- Grupo A: Meningitis de origen bacteriano con confirmación mediante cultivo positivo (n = 26).
- Grupo B: Meningitis de origen bacteriano, con cultivo no solicitado o negativo (n = 15).
- Grupo C: Meningitis de origen vírico, con confirmación mediante cultivo o PCR (n = 23)
- Grupo D: Meningitis de origen vírico, sin confirmación (n = 42) (pruebas microbiológicas no solicitadas o negativas).

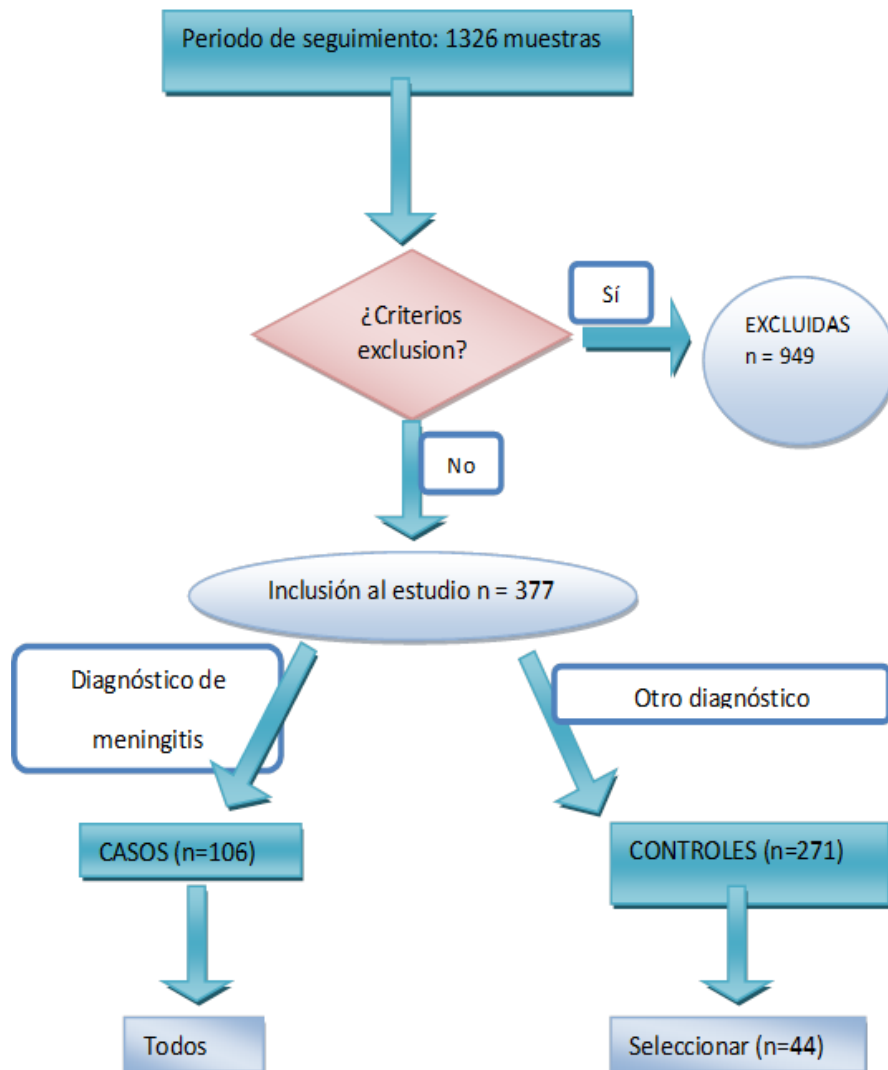


Figura 13. Diagrama de selección de casos y controles para el estudio de IL-6 en LCR

1.3.2.- Estudio de marcadores para el diagnóstico de NAC

De las 620 muestras de LP recogidas en el estudio, un total de 281 muestras (45,3%) fueron descartadas de acuerdo a los criterios de exclusión. Las 339 muestras incluidas en el estudio se correspondieron con pacientes que presentaron derrames pleurales de diferente origen (

Figura 14):

- 134 pacientes con neoplasia (39,5%)
- 92 pacientes con NAC (27,1%)
- 56 pacientes con insuficiencia cardíaca (16,5%)
- 19 pacientes con neoplasia que desarrollaron NAC (5,6%)
- 38 debido a otras causas (11,2%): 22 como consecuencia de patología digestiva, 12 debido a insuficiencia renal, y cinco por causas iatrogénicas

El trabajo experimental de este apartado se planteó inicialmente como un pilotaje incluyendo aproximadamente 200 muestras, con las que poder evaluar el potencial interés de realizar un diseño de estudio más amplio o incluso prospectivo.

Para realizar dicha selección, se aleatorizaron las 339 muestras que cumplían criterios para ser incluidas en el estudio, de tal forma que al menos el 80% de las muestras de pacientes con NAC e ICA estuvieran representadas. El resto de grupos se aleatorizaron de forma simple hasta alcanzar un total de 188 muestras que se distribuían de la siguiente manera (

Figura 14): 73 pacientes con NAC, 51 pacientes con neoplasia, 46 pacientes con ICA, 7 pacientes con neoplasia y NAC, y 11 pacientes con otras patologías.

Se calculó la puntuación FINE y CURB-65 para todos aquellos pacientes a los que se les había diagnosticado NAC.



Figura 14: Diagrama de selección de pacientes para el estudio de marcadores en NAC.

1.4.-Estudio de utilidad pronóstica de IL-6 en LCR

Dado que el diseño retrospectivo del estudio, el desenlace de los pacientes se estableció según el criterio clínico reflejado en el informe de alta. La población se clasificó, en este apartado, según los siguientes criterios:

- **Buena recuperación:** pacientes que tras sufrir un episodio de meningitis, pudieron desarrollar vida normal con calidad de vida óptima.

- **Secuelas neurológicas:** pacientes que al ser dados de alta sufrieron algún trastorno como consecuencia de la infección, y que con frecuencia implicó seguimiento por parte del servicio de neurología: hidrocefalia, aumento de la presión intracraneal, tinnitus, mareos o cefaleas crónicas.
- **Exitus debido a la meningitis:** pacientes que fallecieron como consecuencia de la infección en el SNC, o complicaciones derivadas de la misma.
- **Exitus debido a otras causas:** pacientes que en el momento del ingreso ya presentaban un estado de salud delicado y fallecieron durante su estancia en el hospital, por causas que no pueden imputarse a la meningitis: infarto de miocardio, insuficiencia renal crónica o ictus)

1.5.- Estudio de utilidad de marcadores en LP para diferenciación entre exudado y trasudado

Para clasificar los LP según sus características como exudado o trasudado, se recurrió inicialmente al cumplimiento de al menos uno de los criterios clásicos de Light (Tabla 3). Sin embargo, algunos líquidos no pudieron ser clasificados de acuerdo a dichos criterios, por dos motivos principalmente: a) no se realizó la cuantificación sérica de LDH o de proteínas en una muestra de sangre extraída en paralelo al LP; o b) los criterios de Light eran contradictorios, y al menos uno de ellos orientaba hacia exudado, mientras que otro criterio orientaba hacia trasudado.

Los criterios alternativos empleados en estos casos, fueron los ya descritos en el apartado de introducción, con los siguientes puntos de corte para la clasificación de exudado:

- proteínas en LP > 30 g/L
- colesterol en LP > 45 mg/dL
- gradiente proteínas plasma - LP \leq 31 g/L
- gradiente albúmina plasma - LP \leq 12 g/L

1.6 Tratamiento preanalítico de las muestras

La recogida de LCR se realizó en tubos estériles, sin anticoagulante y sin gel separador, siguiendo las guías clínicas de la EFNS (European Federation of

Neurological Societies)¹⁵⁸, mientras que el LP requirió recogida en tubo heparinizado sin gel separador.

El protocolo del laboratorio para el análisis de líquidos biológicos es:

1. recuento celular, ya sea manual o automatizado.
2. extensión y tinción de la muestra (si procede).
3. centrifugado de la muestra (2000 rpm durante 5 minutos), y análisis bioquímico en el sobrenadante: glucosa y proteínas, así como otras pruebas solicitadas para el manejo asistencial de los pacientes (LDH, albúmina, etc).
4. Finalmente, una alícuota del sobrenadante fue congelada a -50°C para el análisis posterior de los marcadores a estudio.

2.- DEFINICIONES CLÍNICAS

Para establecer las definiciones clínicas se siguieron las recomendaciones de las guías clínicas publicadas por las sociedades científicas. En el caso de la meningitis se siguieron las guías de la EFNS¹⁵⁸, mientras que para la neumonía se siguieron las guías de la SEPAR (Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica)⁵⁰ en el momento de inicio del estudio:

- **Meningitis bacteriana:** Paciente con los siguientes síntomas: (fiebre, dolor de cabeza intenso y rigidez de nuca), recuento por encima de 100 leucocitos/ μ L con predominio de PMN (>60%), y ratio de glucosa LCR/plasma inferior a 0,4.
- **Meningitis vírica:** Pacientes con los siguientes síntomas (fiebre, dolor de cabeza intenso y rigidez de nuca), con predominio de linfocitos (>60%), y ratio de glucosa LCR/plasma con rangos de normalidad.
- **NAC:** Paciente que presenta fiebre, tos, expectoración, dolor costal de tórax y en el que se evidencia presencia de un derrame pleural mediante radiografía torácica. La presentación de síntomas tuvo lugar fuera del medio hospitalario.
- **Control:** paciente que en el momento de la punción lumbar presentaba cuadro no infeccioso y que estaban relacionados en su mayoría con alteraciones neurológicas: dolor de cabeza intenso, hidrocefalia, enfermedad de Alzheimer, demencia, parálisis facial o amnesia.

- **Infección nosocomial o intrahospitalaria:** Es la infección contraída por pacientes ingresados en un recinto de atención a la salud, y no son la causa principal del ingreso del paciente.
- **Exudado:** Muestra de LP en la que se ha producido extravasación de elementos durante el proceso inflamatorio, presentando riqueza de proteínas y células.
- **Trasudado:** Muestra de LP que consiste en un filtrado de plasma con bajo contenido en proteínas y células. Se produce por un aumento de la permeabilidad capilar o la presión osmótica extravascular.

3.- VARIABLES RECOGIDAS DURANTE EL ESTUDIO

3.1.- Variables de selección

Se recogieron numerosas variables de la historia clínica del paciente que se emplearon para realizar la selección de los pacientes en el estudio (Tabla 6 y Tabla 7).

VARIABLES LCR			
Nombre de Variable	Tipo	Categorías	Unidades
<i>Datos recogidos al ingreso:</i>			
Tiempo hasta punción	Cuantitativa		Días
Motivo de consulta/ingreso	nominal		
Diagnóstico	nominal		
<i>Pruebas laboratorio microbiología:</i>			
Identificación bacteria	nominal		
Identificación virus	nominal		

Tabla 6. Variables de selección para el estudio de LCR

VARIABLES LP			
Nombre de Variable	Tipo	Categorías	Unidades
<i>Datos recogidos al ingreso:</i>			
Tiempo hasta toracocentesis	Cuantitativa		Días
Motivo de consulta/ingreso	nominal		
Diagnóstico	nominal		
<i>Pruebas laboratorio microbiología:</i>			

Identificación bacteria	nominal		
Identificación virus	nominal		

Tabla 7. Variables de selección para el estudio de LP

3.2- Variables recogidas de las historias clínicas

Adicionalmente, con la finalidad de establecer los diferentes grupos de estudio, así como estudiar las características de las muestras, se recogieron los siguientes datos de las historias clínicas de los pacientes (Tabla 8 a Tabla 10):

VARIABLES LCR			
Nombre de Variable	Tipo	Categorías	Unidades
<i>Características poblacionales</i>			
Sexo	binaria	Hombre/Mujer	
Edad	Cuantitativa		Años cumplidos
Desenlace	binaria	recuperación/secuelas	
Exitus	binaria	Si / No	
<i>Datos recogidos al ingreso:</i>			
Antibióticos pre-punción	binaria	Si / No	
<i>Determinaciones en sangre periférica</i>			
Hematíes, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Leucocitos, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Glucosa, concentración	Cuantitativa		mg/dL
PCT, concentración	Cuantitativa		ng/mL
PCR, concentración	Cuantitativa		mg/dL
<i>Determinaciones en LCR</i>			
Hematíes, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Leucocitos, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Recuento diferencial PMN	Cuantitativa		%
Recuento diferencial linfocitos	Cuantitativa		%
Glucosa, concentración	Cuantitativa		mg/dL
Proteínas totales, concentración	Cuantitativa		mg/dL

Tabla 8. Variables recogidas de las historias clínicas para el estudio de LCR

VARIABLES LP (Paciente)			
Nombre de Variable	Tipo	Categorías	Unidades
<i>Características poblacionales</i>			
Sexo	binaria	Hombre/Mujer	
Edad	Cuantitativa		Años cumplidos
Paciente institucionalizado	binaria	Si / No	
Tabaquismo	nominal	Si / No / Exfumador	
Trabajador minería	binaria	Si / No	
Exitus	binaria	Si / No	
Tiempo hasta exitus	Cuantitativa		Días
<i>Datos recogidos al ingreso:</i>			
Antibióticos pre-punción	binaria	Si / No	
Alteración consciencia	binaria	Si / No	
Frecuencia respiratoria	Cuantitativa		rpm
Frecuencia cardiaca	Cuantitativa		lpm
Presión arterial sistólica	Cuantitativa		mmHg
Hipotermia o fiebre	binaria	Si / No	
<i>Otros factores de riesgo</i>			
Neoplasia	binaria	Si / No	
Hepatopatía	binaria	Si / No	
Insuficiencia cardiaca	binaria	Si / No	
Enfermedad cardiovascular	binaria	Si / No	
Enfermedad renal crónica	binaria	Si / No	
EPOC	binaria	Si / No	

Tabla 9: Variables recogidas de las historias clínicas para el estudio de LP, relacionadas con los antecedentes y la clínica del paciente

VARIABLES LP (Bioquímica)			
Nombre de Variable	Tipo	Categorías	Unidades
<i>Determinaciones en sangre periférica</i>			
pH arterial	Cuantitativa		Sin unidades
pO ₂	Cuantitativa		mmHg
Hematíes, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Leucocitos, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Hematocrito	Cuantitativa		%
Glucosa, concentración	Cuantitativa		mg/dL
Proteínas, concentración	Cuantitativa		g/L
LDH, actividad	Cuantitativa		UI/L
Urea, concentración	Cuantitativa		mg/dL
Sodio, concentración	Cuantitativa		mmol/L
PCT, concentración	Cuantitativa		ng/mL
PCR, concentración	Cuantitativa		ng/mL
NT-proBNP, concentración	Cuantitativa		pg/mL
Troponina T hs	Cuantitativa		ng/L
<i>Determinaciones en LP</i>			
Aspecto líquido	nominal		
Tipo de líquido	binaria	Exudado / Trasudado	
pH	Cuantitativa		Sin unidades
Hematíes, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Leucocitos, recuento	Cuantitativa		Células/ μ L
Recuento diferencial leucocitario	Cuantitativa		%
Recuento Células mesoteliales	Cuantitativa		%
Glucosa, concentración	Cuantitativa		mg/dL
Proteínas, concentración	Cuantitativa		mg/dL
LDH, actividad	Cuantitativa		UI/L
Albumina, concentración	Cuantitativa		mg/dL
Colesterol, concentración	Cuantitativa		mg/dL
ADA, actividad	Cuantitativa		UI/L

Tabla 10: Variables recogidas de las historias clínicas relacionadas con las pruebas de laboratorio

4.- MÉTODOS ANALÍTICOS

4.1.- IL-6

La cuantificación de IL-6 se realizó mediante un inmunoensayo tipo sándwich con detección por electroquimioluminiscencia (ECLIA) en un autoanalizador Cobas e601 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) (Figura 15). En una primera incubación, el analito forma un complejo sándwich con un anticuerpo monoclonal biotinilado y otro anticuerpo monoclonal marcado con quelato de rutenio. A continuación, se realiza una segunda incubación con micropartículas recubiertas de estreptavidina que interaccionan con la biotina y permiten que el complejo se fije a la fase sólida. La mezcla de reacción se traslada a la célula de lectura, donde las partículas se fijan a la superficie del electrodo por magnetismo, mientras que los elementos no fijados son eliminados por un lavado. Se aplica una corriente eléctrica definida que produce una reacción quimioluminiscente, cuya emisión de luz es directamente proporcional a la concentración del analista y se mide con un fotomultiplicador. El tiempo de análisis total es de 22 minutos.

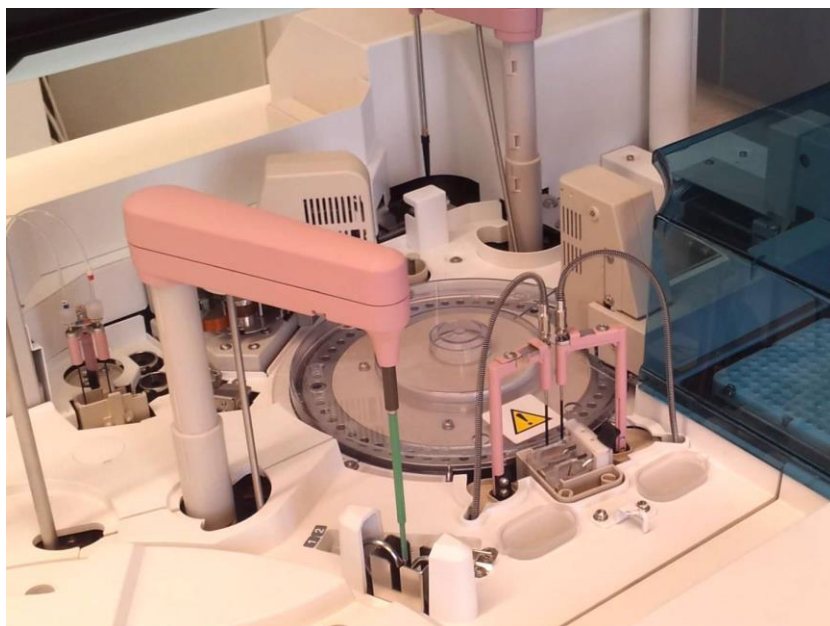


Figura 15. Cobas e601 (Roche), módulo de inmunoanálisis empleado para la cuantificación de IL-6

Este método se encuentra estandarizado frente al material de referencia 89/548 del National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)¹⁵⁹. El límite de detección es de 1,5 pg/mL y la linealidad se mantiene hasta 5000 pg/mL. Aquellas muestras que en una primera medición presentaron valores por encima del intervalo de medición, se procesaron con una dilución 1:10 con el diluyente proporcionado por el fabricante (Diluent Universal, Roche Diagnostics). Si tras este proceso seguían presentando valores fuera de linealidad, se realizó una segunda dilución con un factor 1:50, si bien, en algunas muestras, especialmente en LCR, no fue posible realizar esta segunda dilución debido a su escaso volumen, por lo que se le asignó un valor de 50000 pg/mL para el análisis de resultados.

La imprecisión del método fue publicada por nuestro grupo en un estudio previo, donde se describió una variabilidad intraensayo e interensayo del 7,6% y 8%, respectivamente, para una mezcla de muestras de plasma con concentraciones bajas (concentración media: 3,2 pg/mL)¹⁶⁰. Los materiales de control suministrados por el fabricante (PreciControl MultiMaker, Roche Diagnostics) para las muestras con rango medio y alto de IL-6, concentraciones de 33,3 pg/mL y 210 pg/mL, respectivamente, presentaron coeficientes de variación intraensayo inferiores al 3% (interensayo inferiores a 5%).

El test no presenta reacciones cruzadas con ninguna otra interleukina ni con γ -interferón ni TNF- α . Tampoco presenta interferencias por ictericia o hemólisis.

4.2.- MR-proADM

La cuantificación de MR-proADM se realizó mediante un inmunoensayo sándwich automatizado basado en la tecnología de detección TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission) en un autoanalizador Kryptor Compact PLUS (Brahms GmbH, Hennigsdorf, Alemania) (Figura 16), mediante la lectura de una señal emitida por un inmunocomplejo con tiempo retardado.

El fundamento de la tecnología TRACE consiste en la transferencia de energía no radiante de un complejo donante (Criptato de Europio) a un receptor (proteína XL 665, procedente de la modificación de una proteína de las algas). La proximidad de

ambos cuando forman parte de un inmunocomplejo, sumado a la superposición de sus espectros, intensifican la señal del emisor a la par que amplían la vida media de la señal del emisor, permitiendo una medición de la fluorescencia emitida de forma retardada.



Figura 16. Autoanalizador Kryptor Compact Plus

Por separado, cuando se excita con un láser a 337 nm, el Criptato emite una señal de fluorescencia a 620 nm de larga duración (en el orden de milisegundos), mientras que el XL 665 genera una señal de corta duración a 665 nm del orden de nanosegundos. Sin embargo, cuando se juntan en un inmunocomplejo, ambas señales ocurren a 665 nm y pueden ser medidas en el rango de milisegundos. Este retardo permite descartar otras señales durante la medición, como el ruido o una posible fluorescencia natural del analito. Además, la señal generada por el Criptato a 620 nm es medida simultáneamente a la de 665 nm, y se emplea como una referencia interna, ya que la relación entre ambas señales puede corregir posibles interferencias, como la turbidez de la muestra.

El tiempo de análisis total de esta técnica es de 29 minutos, y presenta un límite de detección de 0,05 nmol/L, con linealidad hasta 10 nmol/L, permitiendo realizar una dilución automática 1:10 de las muestras. La imprecisión del ensayo fue valorada por el fabricante siguiendo los documentos del CLSI (CLSI EP 5-A2), a distintas concentraciones (Tabla 11).

Concentración	CV intraensayo	CV interensayo
0,2 nmol/L – 0,5 nmol/L	10%	20%
0,5 nmol/L – 2 nmol/L	4%	11%
2 nmol/L – 6 nmol/L	2%	10%
> 6 nmol/L	3,5%	6%

Tabla 11. Valoración de la imprecisión intra e interensayo de MR-proADM para varios intervalos de concentración

El ensayo no presenta interferencias significativas por hemoglobina, bilirrubina o medicamentos. Tampoco presenta el denominado “efecto gancho” en concentraciones hasta 225 nmol/L. Este ensayo fue validado por el fabricante para cuantificar MR-proADM en muestras de plasma recogidas en tubos que emplean EDTA tripotásico como anticoagulante. Sin embargo, las muestras empleadas en el presente estudio de LP fueron recogidos en tubo heparinizado sin gel separador.

Para evaluar un posible efecto matriz que pudiera afectar en la cuantificación de MR-proADM, se realizó un estudio de recuperación del analito. Como se describirá en el apartado de resultados, para dicho estudio, se prepararon mezclas de LP con diferente contenido en MRproADM, añadiendo cantidades conocidas de un material de control de calidad sobre la mezcla matriz, en la que previamente se midió la MRproADM basal.

Por otra parte, se intentaron comparar los resultados obtenidos mediante tecnología TRACE con los de un ensayo ELISA, producido por Elabscience Biotechnology (Wuhan, China). Según los datos proporcionados por el fabricante el método es aplicable para medir MR-proADM en líquidos biológicos, con un rango comunicable de 15,63 a 10000 pg/mL, un límite de detección de 9,38 pg/mL y un coeficiente de variación inferior al 10%.

5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cuantitativas se expresan como mediana, acompañada del intervalo intercuartílico entre paréntesis (IIC). Las variables categóricas como frecuencia absoluta (n) y porcentaje (entre paréntesis). Los datos se analizaron mediante los softwares IBM SPSS (Versión 19.0, IBM, Chicago, EEUU) y MedCalc (versión 12.5, MedCalc Software bvba, Ostend, Bélgica).

Se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si las variables cuantitativas se ajustaban a una distribución normal. Las comparaciones entre los grupos de estudio se realizaron mediante el test U de Mann-Whitney para variables cuantitativas no normales, y el test Kruskal-Wallis cuando se realizaron comparaciones de más de dos grupos. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p inferior a 0,05.

Las distribuciones de los resultados obtenidos para las variables cuantitativas de interés se representaron mediante diagramas de caja, que permitieron, además, identificar gráficamente valores aberrantes: con un asterisco (valores distanciados en $>3DS$ del rango intercuartílico) o con un círculo vacío (valores distanciados $>1,5DS$ del rango intercuartílico), siendo DS la desviación estándar de la distribución correspondiente.

El rendimiento de los diferentes marcadores de diagnóstico se evaluó mediante curvas ROC, determinándose el valor del AUC, con sus intervalos de confianza al 95% (IC95%), y comparándose dichas áreas con el test de Hanley y McNeil. Se utilizaron las coordenadas de las gráficas de las curvas ROC para seleccionar los puntos de corte óptimos (mayor sensibilidad y especificidad posibles) para los diferentes marcadores.

Por último, se realizaron modelos multivariantes para combinar distintas variables clínicas y analíticas en el diagnóstico de NAC, así como para evaluar el pronóstico de los pacientes.

RESULTADOS

1.- IL-6 COMO MARCADOR DE DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS

BACTERIANA AGUDA

1.1.- Características de la población

Se analizaron las características demográficas y clínicas de la población de estudio, de acuerdo a los grupos de muestras de LCR previamente definidos: Meningitis bacteriana con confirmación (Grupo A), meningitis bacteriana sin confirmación (Grupo B), meningitis vírica confirmada (Grupo C), meningitis vírica sin confirmación (Grupo D) y grupo control (Grupo E).

En la Tabla 12 se presentan los datos de cada uno de estos grupos: edad de los pacientes, el sexo y el valor de los parámetros obtenidos de la punción lumbar, tanto citológicos (recuento de hematíes, leucocitos, porcentaje de PMN), como bioquímicos (glucosa y proteínas).

Variable	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo E	p
Pacientes (n)	26	15	23	42	44	-
Edad (años)	46 (21 – 66)	62 (35 – 65)	38 (6 – 62)	35 (7 – 61)	50 (32 – 72)	0,069
Mujeres, n (%)	10 (38,5)	11 (73,3)	7 (30,4)	20 (47,6)	22 (50)	0,077
Hematíes (células/ μ L)	145 (14 – 1000)	548 (12 – 2043)	16 (2 – 239)	27 (3 – 291)	17 (4 – 29)	0,505
Leucocitos (células/ μ L)	1603 (229 – 3570)	408 (47 – 836)	150 (74 – 239)	134 (43 – 314)	22 (19 – 25)	< 0,001
PMN (%)	88,0 (83,0 – 97,3)	68,5 (37,3 – 91,8)	11,5 (3,8 – 84,2)	29,5 (11,3 – 58,0)	7,9 (0,0 – 15,8)	< 0,001
Glucosa (mg/dL)	36,5 (20,0 – 64,3)	32,0 (7,3 – 57,0)	63,5 (53,5 – 75,0)	61,0 (54,0 – 71,3)	66 (63 – 69)	< 0,001
Cociente glucosa LCR/sangre	0,31 (0,15 – 0,48)	0,26 (0,09 – 0,45)	0,57 (0,49 – 0,61)	0,57 (0,51 – 0,62)	0,43 (0,27 – 0,59)	< 0,001
Proteínas (mg/dL)	195 (93 – 302)	163 (71 – 459)	73 (36 – 87)	56 (33 – 75)	32 (26 – 39)	< 0,001
Casos adquiridos en hospital, n (%)	10 (38,5)	8 (53,4)	1 (4,5)	1 (2,4)	No aplica	-

Tabla 12. Descripción de la población en el estudio de LCR. Todos los resultados están expresados como mediana (IC), excepto la proporción de mujeres y los casos adquiridos en el hospital, que están expresados como frecuencia, n (%).

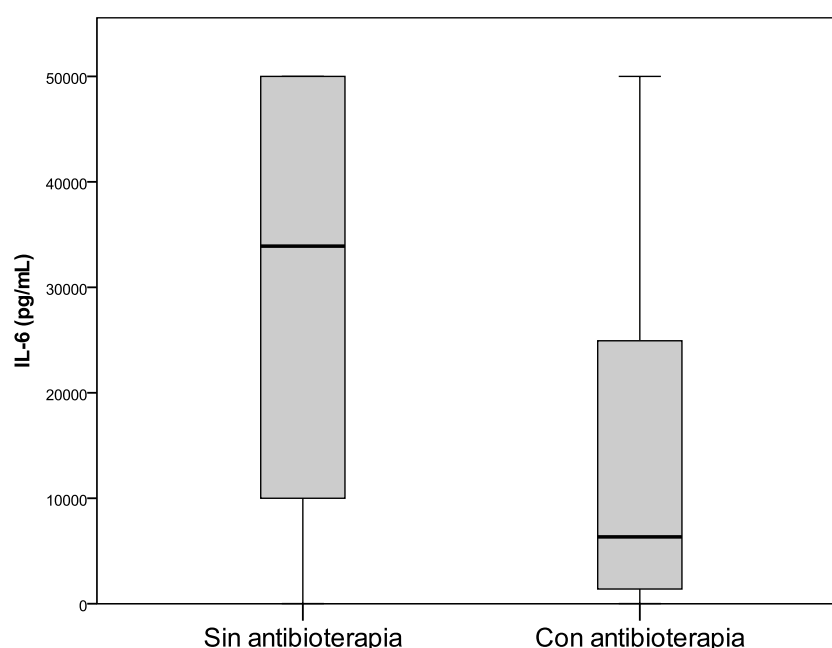
En cuanto a la edad, los valores mínimo y máximo en cada grupo fueron 0-88 años en el grupo A, 13-65 años en el grupo B, 0-83 años en el grupo C, 0-78 años en el grupo D y 0-82 años en el grupo E. Con respecto a la población pediátrica del grupo A, el estudio solo incluyó a 4 pacientes menores de 13 años, siendo el valor mínimo registrado el correspondiente a un neonato de pocos días de vida. Esta distribución de la población pediátrica fue similar en los grupos B y E, mientras que en los grupos C y D, la población pediátrica llegó a abarcar el primer cuartil. A pesar de ello, al comparar las medias de la edad de los grupos no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p = 0,069$). Tampoco fueron estadísticamente diferentes la proporción de mujeres y el recuento de hematíes en LCR.

Sin embargo, sí que se observaron diferencias significativas entre todos los grupos al comparar las medias de aquellos parámetros relacionados con la infección. El grupo A mostró diferencias estadísticamente significativas con los grupos C, D y E, para todos los parámetros ($p \leq 0,002$). Pero al compararlo con el grupo B, se encontraron diferencias significativas en el recuento leucocitario ($p = 0,046$) y el porcentaje de PMN ($p = 0,023$), pero no con la concentración de glucosa ($p = 0,989$), el cociente de glucosa ($p = 0,474$) y la concentración de proteínas ($p = 0,369$). Por su parte, el grupo B sí mostró diferencias significativas con los grupos C, D y E para el resto de parámetros ($p \leq 0,035$). Finalmente, los grupos C y D mostraron diferencias respecto al grupo control (grupo E) para todos los parámetros ($p \leq 0,001$), excepto la glucosa ($p = 0,984$ en el grupo C y $p = 0,296$ en el grupo D) y el cociente de glucosa, que fue significativamente diferente al comparar el grupo D con el E ($p = 0,018$), mientras que no lo fue en el caso del grupo C ($p = 0,161$).

Las muestras de LCR donde fueron aislados diversos patógenos componen los grupos A y C. Entre los más comunes del grupo A destacan *Staphylococcus aureus* ($n = 5$), *Staphylococcus epidermidis* ($n = 5$), *S. pneumoniae* ($n = 4$), *Escherichia coli* ($n = 3$), *Listeria monocytogenes* ($n = 3$), *N. meningitidis* ($n = 3$) y *H. influenzae* ($n = 2$). No se pudo establecer ninguna correlación con las concentraciones de glucosa, proteínas o IL-6 y los patógenos. En el grupo C, el patógeno más comúnmente aislado fue el enterovirus ($n = 10$), seguido de herpes simple-1 ($n = 5$) y varicela zoster ($n = 4$).

1.2.- Efectos de la antibioterapia

Se consideró la posibilidad de que la administración de antibióticos previo a la punción lumbar pudiera tener impacto sobre la concentración de IL-6 en LCR. Por este motivo se analizó, en primer lugar, la distribución observada en los 41 pacientes que integran los grupos A y B (meningitis bacteriana). Entre todos ellos, 12 pacientes habían recibido antibioterapia, 27 no la habían recibido y en 2 pacientes se desconocía dicha información. Se comparó la mediana de IL-6 en LCR de los pacientes que no habían realizado antibioterapia profiláctica con respecto a los que sí la habían realizado (Figura 17), observándose valores significativamente más elevados ($p = 0,025$) en el grupo de pacientes que no habían recibido antibióticos (Mediana: 33912 pg/mL respecto a 6332 pg/mL).



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo
Sin antibioterapia	27	15	9816	33912	50000	50000
Con antibioterapia	12	15	1378	6332	32396	50000

Figura 17. Distribución de las concentraciones de IL-6 (pg/mL) en LCR en los pacientes de los grupos A y B según la profilaxis antibiótica

Tras revisar con detalle las historias clínicas de los 12 pacientes que recibieron antibioterapia empírica, se observó que habían quedado repartidos entre los grupos A y B. En total, seis de los 15 pacientes del grupo B habían recibido antibióticos en las 72 horas previas a la admisión, lo que representa un 40% del tamaño muestral de dicho

grupo; Los otros seis pertenecían al grupo A, que al estar integrado por un total de 26 pacientes, representan un 23,1% del grupo.

Las características de los pacientes que integran el grupo B se presentan en la Tabla 13. En total, de los 11 pacientes con cultivo negativo, cinco fueron tratados con antibióticos y los restantes seis no.

Pacientes grupo B	Cultivo negativo	Cultivo no realizado	Total
Tratados con antibiótico	5	1	6
No tratados con antibióticos	6	3	9
Total	11	4	15

Tabla 13. Distribución de los pacientes del grupo B según la administración de antibioterapia.

En el grupo D, a 12 de los 42 (28,6%) pacientes no se les realizó ninguna prueba en el laboratorio de microbiología, mientras que a los 30 restantes (71,4%) se les realizó al menos el cultivo o una prueba de PCR frente a los patógenos más frecuentes. Adicionalmente a las pruebas víricas, a un total de 29 muestras (69%) se les realizó un cultivo específico de bacterias, y solo en 7 pacientes (16,7%) no se realizó ni el cultivo bacteriano ni las pruebas víricas (

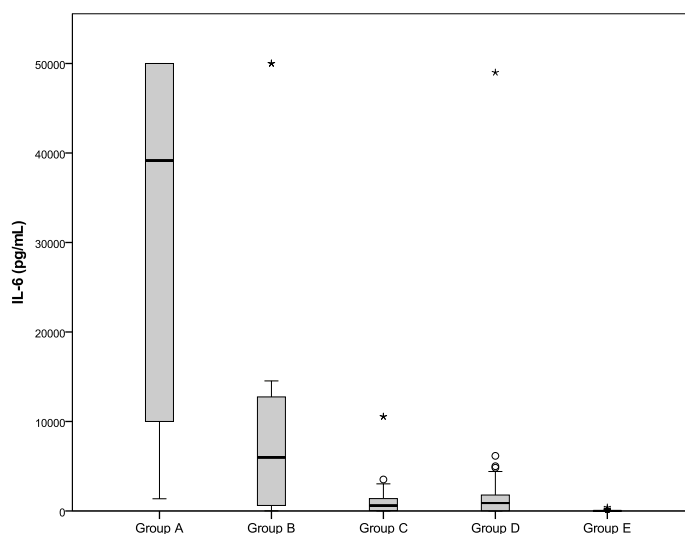
Tabla 14). Algunos pacientes del grupo D, además, fueron previamente tratados con antibióticos o bien con antivirales, (principalmente aciclovir).

Pacientes grupo D	Pruebas víricas negativas		Pruebas víricas no realizadas		Total
	Bacteria negativa	Bacteria no realizado	Bacteria negativa	Bacteria no realizado	
Tratados con antibiótico	3	0	3	0	6
Tratado con antivirales	7	5	1	1	14
Sin tratamiento	14	1	1	6	22
Total	24	6	5	7	42

Tabla 14: Distribución de los pacientes del grupo D según la antibioterapia recibida

1.3.- Marcadores de meningitis en LCR

En todos los grupos, la concentración de IL-6 en LCR mostró diferencias estadísticamente significativas con la del grupo de control (grupo E) ($p < 0,001$). También observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo A y el grupo B ($p = 0,006$), así como con el resto de grupos ($p < 0,001$). En la Figura 18 se presenta los diagramas de cajas y se tabulan los cuartiles de la distribución de concentraciones de IL-6 en LCR, en pg/mL, en los cinco grupos de pacientes, así como los valores mínimos y máximos. En dicha figura se puede observar que sólo existe cierto grado de solapamiento entre los valores de los grupos que engloban los casos diagnosticados de meningitis bacteriana (grupos A y B), que apenas se aprecia cuando se compara la distribución de concentraciones del grupo A con la del resto de grupos (C, D y E). Cabe destacar también que el diagrama de cajas del grupo A está truncado porque no se realizaron diluciones para obtener una concentración de IL-6 por encima de 50000 pg/mL.



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
A	26	1363	9816	39157	50000	50000	<0,001
B	15	15,0	228	5983	14531	50000	<0,001
C	23	3,0	601	601	1399	10555	<0,001
D	42	4,0	887	887	1822	49000	<0,001
E	44	<2,5	2,68	3,67	10,1	402	-

Figura 18. Distribución de las concentraciones de IL-6 (pg/mL) en LCR en los diferentes grupos de estudio.

En la

Tabla 15, se detallan los cuatro casos que presentaron valores extremos de IL-6, identificadas en el diagrama de cajas de la Figura 18, con un asterisco (valores distanciados en $>3DS$ del rango intercuartílico) o con un círculo vacío (valores distanciados $>1,5 DS$ del rango intercuartílico).

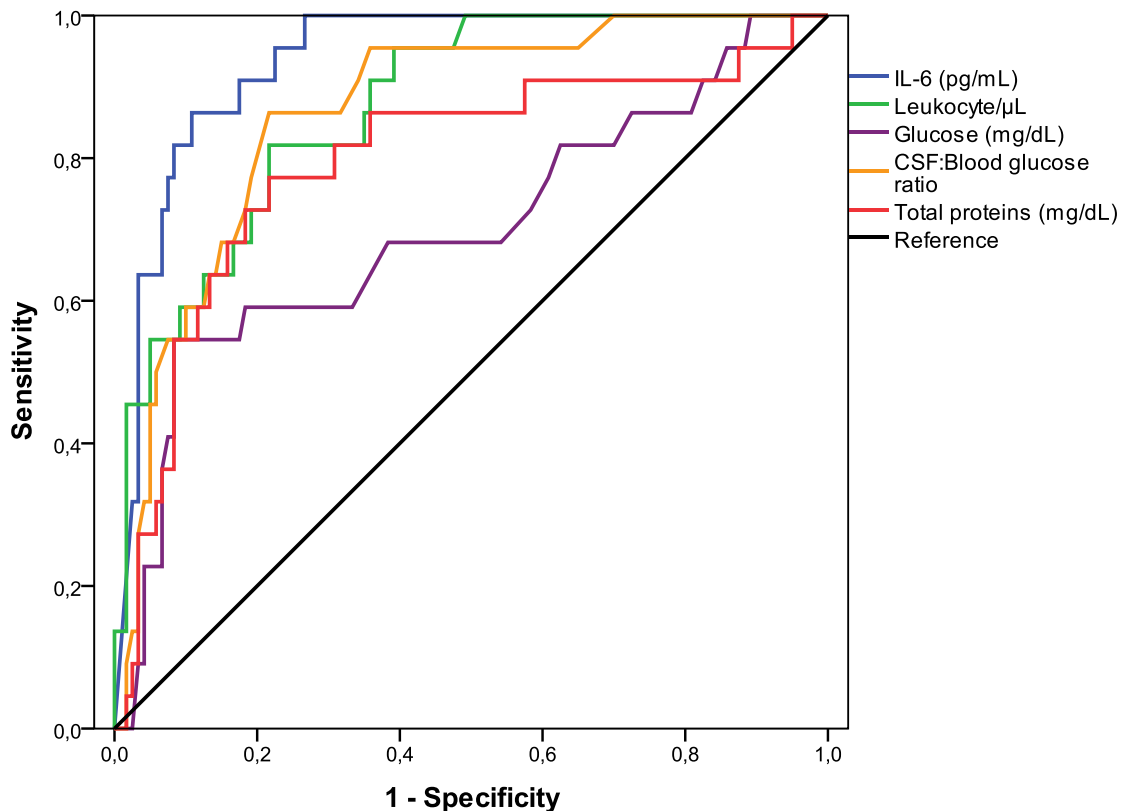
	Grupo	IL-6 (pg/mL)	Leu/ μL	PMN (%)	Glucosa (mg/dL)	Ratio	Proteínas (mg/dL)	Antibio. previa	Cultivo
1	B	>50000	1258	85	9	No	265	No	No realizado
2	B	>50000	7830	93	8	0,10	486	No	No realizado
3	B	>50000	7907	94	5	0,04	505	Sí	Negativo
4	D	49000	304	54	76	0,38	173	No	No realizado

Tabla 15. Descripción de los pacientes que mostraban valores extremos de IL-6 observados en los grupos B y D

Las muestras 1, 2 y 3 de LCR presentan resultados compatibles con una meningitis bacteriana, pero, debido a que el cultivo no se realizó (muestras 1 y 2), o bien fue negativo (muestra 3, correspondiente a un paciente que había recibido antibioterapia previa), no hubo confirmación microbiológica. Por este motivo, a efectos del presente trabajo, fueron clasificadas en el grupo B en lugar del grupo A.

Por otra parte, la muestra 4, presentó valores discordantes en los marcadores clásicos (bajo porcentaje de PMN con ratio de glucosa $<0,4$), y se clasificó en el grupo D al no existir confirmación con las pruebas de microbiología.

De acuerdo con el análisis ROC, la IL-6 presentó la mayor área bajo la curva (AUC: 0,937; IC95%: 0,895-0,978), con diferencias estadísticamente significativas con respecto a la de los marcadores clásicos (recuento de leucocitos, ratio glucosa y proteínas totales), a pesar de existir cierto grado de solapamiento entre los IC95% de las AUC en el análisis ROC de dichos marcadores (Figura 19).



Marcador	AUC	Error Standard	IC 95%	p
IL-6 (pg/ml)	0,937	0,021	0,895 – 0,978	-
Leucocitos/μL	0,872	0,036	0,802 – 0,943	0,033
Glucosa (mg/dL)	0,698	0,069	0,564 – 0,833	0,001
Ratio glucosa	0,865	0,038	0,791 – 0,939	0,046
Proteínas (mg/dL)	0,795	0,059	0,680 – 0,910	0,008

Figura 19. Comparación del poder diagnóstico de IL-6 con respecto a los marcadores clásicos en el diagnóstico de meningitis bacteriana

El punto de corte para la IL-6 en LCR que mejor rendimiento diagnóstico proporcionó fue de 1418 pg/mL, mostrando una sensibilidad del 95,5% y una especificidad del 77,5%. Por otra parte, se buscó un punto de corte para tratar de maximizar la especificidad, y fue de 15060 pg/mL, que mostró una sensibilidad del 63,6% y una especificidad del 96,7%. En la

Tabla **16** se resume el rendimiento de los puntos de corte encontrados en este trabajo para cada uno de los marcadores, así como los propuestos en recuento celular y cociente de glucosa en las guías clínicas.

Este punto de corte difiere notablemente de los valores propuestos por las guías clínicas para los marcadores clásicos, los cuales sólo consiguieron alcanzar valores de sensibilidad similares a la IL-6 a expensas de su especificidad. De todos ellos, el marcador que mejor rendimiento proporcionó fue el cociente glucosa LCR/sangre que, con un valor de 0,545, demostró un 95,5% de sensibilidad y un 60,8% de especificidad.

Biomarcador	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IL-6 (pg/mL)	1418	95,5	77,5
	15060	63,6	96,7
Recuento celular (leucocitos/μL)	48	95,5	60,8
	100 (guías clínicas)	81,8	68,3
	1127	45,5	96,7
Glucosa (mg/dL)	77	95,5	14,2
	15,1	9,1	96,7
Ratio glucosa LCR/sangre	0,545	95,5	64,2
	0,400 (guías clínicas)	59,1	89,2
	0,165	27,3	96,7
Proteínas totales (mg/dL)	27,85	95,5	12,5
	434,3	27,3	96,7

Tabla 16. Rendimiento de los puntos de corte hallados en el estudio para obtener la máxima sensibilidad o especificidad, y el rendimiento de los puntos de corte propuestos en las guías clínicas.

La gravedad del desenlace en el momento del alta médica quedó reflejada en la historia clínica en 102 de los 106 casos incluidos en este estudio (96,2%) y fue muy diversa: la mayoría de los pacientes (n = 68; 64,2%) presentaron una completa resolución del proceso infeccioso sin complicaciones destacables (buena recuperación), mientras que otros pacientes fallecieron, bien por la propia meningitis (n = 5; 4,7%), o por otras causas concomitantes (n = 4; 3,8%), como infarto de miocardio o fallo hepático. En los 25 pacientes restantes (23,6%) aparecieron secuelas neurológicas (

Tabla 17).

En la distribución de IL-6 según el desenlace del paciente y el grupo al que pertenecían (Figura 20), cabe destacar que en el grupo de meningitis bacterianas confirmadas (grupo A), se observaron valores más elevados en los pacientes que

tuvieron una buena recuperación (mediana: 50000 pg/mL; IIC: 155889 – 50000 pg/mL) con respecto a los pacientes que padecieron secuelas neurológicas (mediana: 29372 pg/mL; IIC: 9263 – 39862 pg/mL) y respecto a los pacientes que fueron exitus por meningitis, pero sin llegar a alcanzar significación estadística entre ellos ($p = 0,126$).

Desenlace	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Total
Buena recuperación	11	9	13	35	68
Secuelas neurológicas	7	4	7	7	25
Exitus, meningitis	4	0	1	0	5
Exitus, otras causas	2	1	1	0	4
Desconocido	2	1	1	0	4
Total	26	15	23	42	106

Tabla 17. Desenlace de los pacientes en cada uno de los grupos en el momento de ser dados de alta

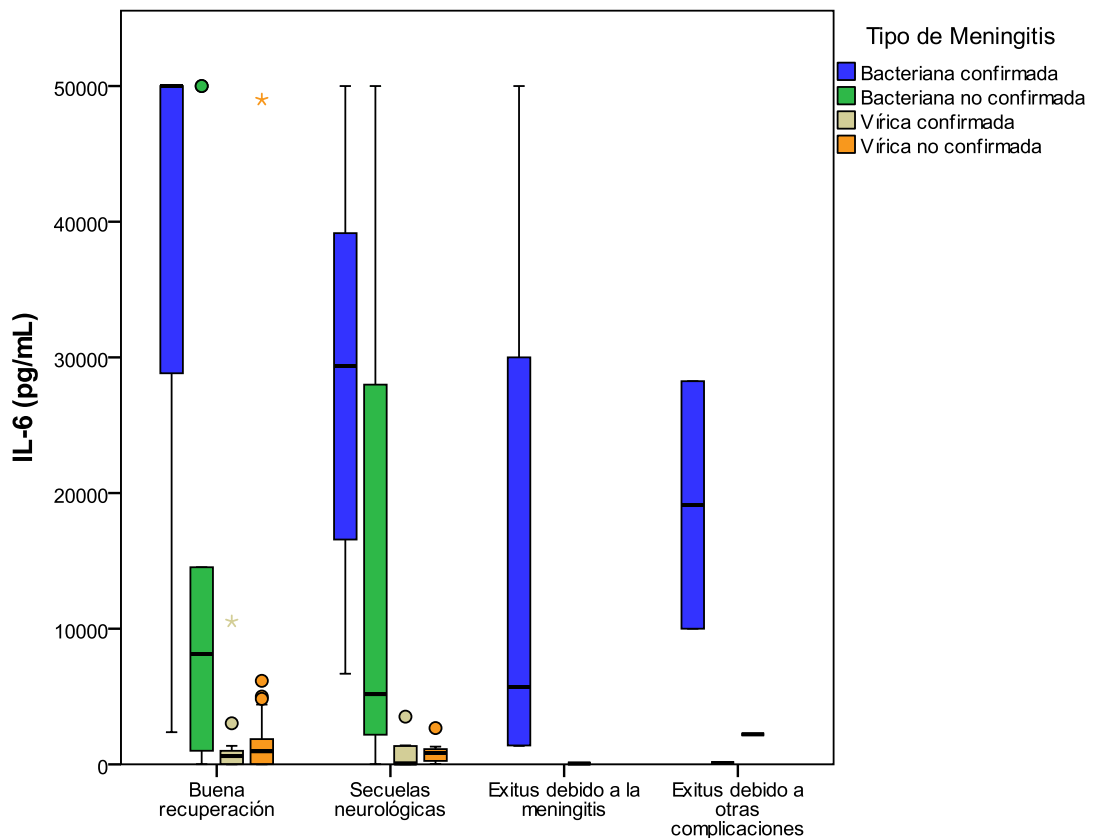


Figura 20. Distribución de las concentraciones de IL-6 (pg/mL) en LCR según el desenlace en los diferentes grupos.

2.- IL-6 Y MR-PROADM COMO MARCADORES DE

DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE NAC

2.1.- Características de la población

Como se ha descrito en el apartado de material y métodos, los pacientes del presente estudio se clasificaron en base a la información recogida de la revisión de sus historias clínicas. Se analizaron las características demográficas y clínicas de las muestras procedentes de los 188 pacientes seleccionados para el estudio (

Tabla 18), estratificadas según los grupos de inclusión previamente definidos (NAC, Neoplasia, ICA, NEO+NAC y otros). Se realizaron comparaciones entre los grupos, en cuanto a edad de los pacientes, el sexo y el valor de los parámetros obtenidos de la punción lumbar, tanto citológicos (recuento de hematíes, leucocitos, porcentaje de PMN y linfocitos), como bioquímicos (glucosa y proteínas, LDH, ADA y pH).

Variable	NAC	Neoplasia	ICA	NEO+NAC	Otros	p
Pacientes (n)	73	51	46	7	11	-
Edad (años)	59 (46 - 73)	70 (62 - 80)	80 (73 - 85)	64 (61 - 84)	59 (53 - 75)	<0,001
Mujeres, n (%)	20 (27,4)	17 (33,3)	9 (19,6)	3 (42,9)	3 (27,3)	0,535
Hematíes (células/ μ L)	8250 (2787 - 31500)	6000 (2000 - 23500)	2000 (405 - 10500)	290000 (400 - 752000)	100 (40 - 9000)	< 0,001
Leucocitos (células/ μ L)	5208 (1339 - 15833)	1039 (332 - 2914)	656 (237 - 999)	71240 (6800 - 178300)	280 (44 - 473)	0,004
PMN (%)	79 (62 - 88)	27 (9 - 52)	11 (6 - 32)	76 (55 - 92)	17 (6 - 64)	0,009
Linfocitos (%)	15 (10 - 32)	51 (28 - 72)	73 (49 - 91)	24 (8 - 45)	83 (37 - 94)	0,009
Glucosa (mg/dL)	81 (14 - 109)	118 (85 - 144)	121 (109 - 157)	103 (30 - 174)	116 (91 - 128)	< 0,001
Proteínas (mg/dL)	45 (33 - 50)	40 (26 - 48)	31 (20 - 38)	34 (20 - 2030)	23 (11 - 29)	< 0,001
LDH (UI/L)	835 (326 - 1472)	260 (143 - 471)	22,2 (83 - 186)	698 (53 - 16566)	128 (58 - 196)	0,001
ADA (UI/L)	32,6 (23,6 - 47,6)	22,8 (18,6 - 31,3)	18,0 (14,9 - 20,1)	15,1 (4,8 - 22,9)	-	0,361
pH	7,3 (7,0 - 7,4)	7,4 (7,3 - 7,5)	7,5 (7,4 - 7,5)	-	-	-

Tabla 18. Datos recogidos a nivel asistencial de la población en el estudio de LP. Los resultados están expresados como mediana (IIC), excepto la proporción de mujeres que está expresada en porcentaje.

En cuanto a la edad, los valores mínimos y máximos en cada grupo fueron 2-92 años en el grupo de pacientes NAC, 37-89 años en los pacientes con neoplasia, 64-94 años en los pacientes con ICA, 46-96 en el grupo de pacientes que presentó NAC simultáneamente a una neoplasia, y 50-86 en el resto de pacientes, y al comparar las medias de edad entre todos los grupos, se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). En los restantes parámetros, al hacer una comparación entre los grupos, también se observaron diferencias estadísticas, excepto en el caso del ADA y del sexo. El grupo NAC mostró diferencias significativas en todos los parámetros con respecto a los grupos de pacientes con ICA, neoplasia y otros diagnósticos ($p \leq 0,019$), excepto al comparar el recuento de hematíes con respecto al observado en el grupo de pacientes con neoplasia ($p = 0,304$). Sin embargo, al comparar los grupos NAC y NEO+NAC, no se observaron diferencias significativas en ningún parámetro, como se describirá con más detalle posteriormente.

2.1.1.- Factores de riesgo

Se intentó controlar el posible efecto confusor de algunos factores de riesgo adicionales, como el tabaquismo, la exposición profesional en la minería o al amianto, o padecer EPOC como enfermedad de base (Tabla 19). Cien de los pacientes (53,2%) eran fumadores activos o bien lo habían sido en algún momento a lo largo de su vida, y 24 pacientes (14,6%) habían desarrollado actividades profesionales que implicaban una posible exposición a la inhalación de partículas de sílice o de amianto, con el consiguiente riesgo de desarrollar silicosis o asbestosis. Finalmente, 29 pacientes (15,4%) habían sido diagnosticados previamente al ingreso de EPOC, con diferentes estadios según la clasificación de la guía Gold (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease). La influencia de estos factores se evaluó mediante un estudio multivariable.

2.1.2.- Estudio microbiológico y efectos de la antibioterapia

En el 76,3% de los 80 pacientes que integran el grupo NAC (n = 61) se solicitaron pruebas en el laboratorio de microbiología. Los 24 casos en que fue posible aislar el agente patógeno responsable se detallan en la

Tabla 20. En los 37 pacientes restantes, no fue posible aislar el agente responsable del cuadro infeccioso.

Factor de riesgo	NAC	Neoplasia	ICA	NEO+NAC	Otros	TOTAL
<i>Tabaquismo</i>						
Nunca fumador	34	22	21	3	8	88
Fumador o exfumador	39	29	25	4	3	100
<i>Exposición profesional</i>						
No expuesto	67	44	36	6	11	164
Minería / amianto	6	7	10	1	0	24
<i>EPOC</i>						
No EPOC	64	44	36	5	10	159
EPOC	9	7	10	2	1	29
➤ Gold I	3	4	3	0	1	11
➤ Gold II	5	3	4	1	0	13
➤ Gold III	1	0	3	1	0	5

Tabla 19. Factores de riesgo relacionados con patologías pulmonares en los pacientes del estudio de LP.

Bacterias Gram Negativas		Bacterias Gram Positivas	
Especie	n	Especie	n
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	<i>Aerococcus urinae</i>	1
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Enterobacterias		<i>Corynebacterium amycolatum</i>	1
➤ <i>Escherichia coli</i>	1	<i>Streptococcus</i>	
➤ <i>Enterobacter cloacae</i>	2	Grupo A: <i>S. pneumoniae</i>	
		➤ cultivo	1
		➤ Antígeno en orina	8
		Grupo Viridans	
		➤ <i>S. constellatus/milleri</i>	2
		➤ <i>S. anginosus/milleri</i>	1

		➤ <i>S. intermedius/millieri</i>	1
		➤ Otros viridans	2

Tabla 20. Relación de microorganismos identificados en los pacientes del grupo NAC

De los 188 pacientes que integran este apartado del estudio, 58 (30,9%) recibieron antibioterapia hasta 72 horas antes de la toracocentesis. Este porcentaje es más elevado dentro del grupo de 80 pacientes que presentaron NAC, en el que un total de 46 pacientes (57,5%) habían recibido antibioterapia previa. Se observó que la proporción de pacientes con cultivo negativo fue mayor en aquellos pacientes que recibieron antibioterapia con respecto a los que no la recibieron (Tabla 21).

Pacientes NAC	Cultivo positivo	Cultivo negativo	Cultivo no realizado	Total
Tratados con antibiótico	13	23	10	46
No tratados con antibióticos	11	14	9	34
Total	24	37	19	80

Tabla 21: Distribución de los pacientes del grupo NAC según la antibioterapia recibida.

2.1.3.- Evaluación del riesgo en pacientes NAC

Para evaluar la gravedad y el riesgo de mortalidad de los 80 pacientes que presentaron NAC, se calculó la puntuación FINE/PSI y CURB-65. Para la escala FINE, se establecieron tres grupos de riesgo: bajo (FINE I, II y III), riesgo intermedio (FINE IV) y riesgo alto (FINE V). En la Tabla 22 se presentan las características de los pacientes NAC estratificados según el grupo de riesgo de la escala FINE. Como era de esperar, se observaron diferencias en cuanto a la edad de los pacientes del grupo de riesgo bajo respecto a los incluidos en riesgo intermedio y alto, dado que la edad es uno de los ítems que se incluyen en el cálculo de dicho riesgo.

Variable	Riesgo Bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto	p
Pacientes (n)	30	27	23	-
Edad (años)	46 (13 - 57)	67 (55 - 78)	73 (65 - 82)	<0,001
Mujeres, n (%)	8 (26,7)	9 (33,3)	6 (26,1)	0,811
Hematíes (células/ μ L)	10000 (4250 – 67500)	3880 (1962 - 17750)	17000 (5575 - 170000)	0,042
Leucocitos (células/ μ L)	5892 (2805 – 9950)	6840 (2724 – 20945)	7551 (1200 – 77055)	0,167

PMN (%)	75 (62 – 85)	85 (68 – 92)	63 (39 – 88)	0,440
Linfocitos (%)	15 (10 – 32)	51 (28 – 72)	63 (39 – 91)	0,321
Glucosa (mg/dL)	75 (58 - 101)	88 (4 – 113)	86 (6 – 132)	0,205
Proteínas (mg/dL)	45 (32 – 50)	49 (38 – 52)	37 (27 – 46)	0,315
LDH (UI/L)	795 (341 – 1571)	942 (540 – 1348)	700 (196 – 1896)	0,885
ADA (UI/L)	35,6 (25,7 – 48,5)	32,3 (23,4 – 41,1)	22,9 (17,1 – 39,4)	0,260

Tabla 22: Características de los pacientes NAC según riesgo por la escala FINE. Los resultados están expresados como mediana (IIC), excepto la proporción de mujeres, que está expresada en porcentaje.

En la escala CURB-65 se establecieron tres grupos de riesgo según la puntuación total de los ítems valorados: Riesgo bajo (puntuación 0 – 1), Riesgo intermedio (puntuación 2) y riesgo alto (puntuación 3 – 4) (Tabla 23).

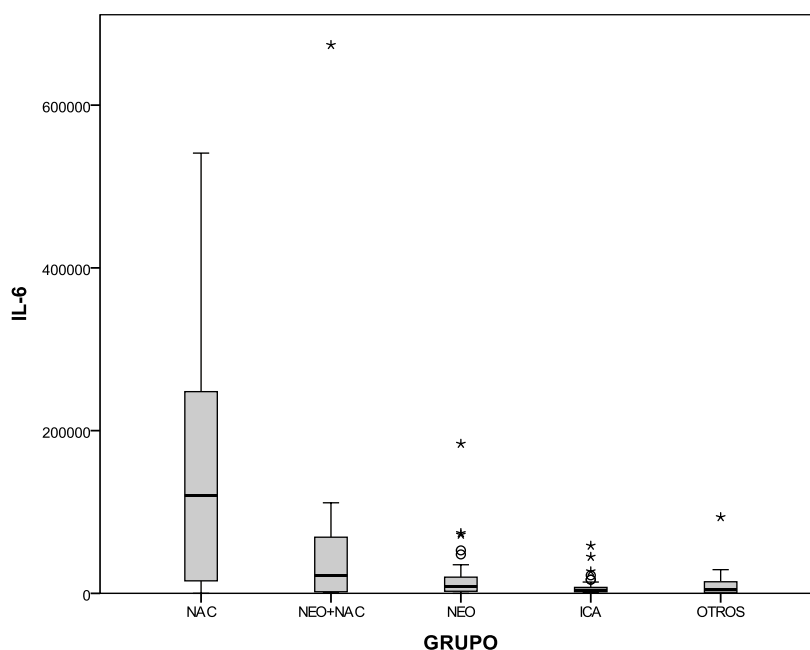
Variable	Riesgo Bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto
Pacientes (n)	43	20	17
Edad (años)	53 (44 - 59)	68 (62 - 72)	79 (74 - 84)
Mujeres, n (%)	15 (34,9)	4 (20,0)	4 (23,5)
Hematíes (células/ μ L)	7340 (2700 – 39600)	8500 (5000 - 283000)	17000 (3420 - 90750)
Leucocitos (células/ μ L)	5860 (2544 – 21660)	5923 (729 – 13130)	7538 (1394 – 69878)
PMN (%)	80 (64 – 90)	68 (38 – 85)	84 (40 – 90)
Linfocitos (%)	16 (8 – 32)	22 (14 – 38)	13 (9 – 50)
Glucosa (mg/dL)	71 (7 - 103)	81 (49 – 119)	98 (54 – 153)
Proteínas (mg/dL)	46 (32 – 54)	45 (36 – 50)	38 (30 – 46)
LDH (UI/L)	835 (445 – 1533)	575 (369 – 3480)	869 (212 – 1852)
ADA (UI/L)	34,6 (23,4 – 52,1)	29,0 (21,6 – 42,7)	23,1 (18,6 – 33,8)

Tabla 23: Características de los pacientes NAC en base a su clasificación de riesgo por la escala CURB-65. Los resultados están expresados como mediana (IIC), excepto la proporción de mujeres, que está expresada en porcentaje.

2.2.- IL-6 como marcador diagnóstico de neumonía

En todos los grupos se determinó la concentración de IL-6, la cual aparece expresada como mediana, con sus correspondientes intervalos de confianza (IC95%). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes con NAC y los pacientes con neoplasia, ICA y otras patologías (Figura 21). No se

encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con NAC y el grupo de pacientes que presentó NAC y neoplasia. Así mismo, al comparar los restantes grupos entre sí, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, a excepción de los pacientes con neoplasia con respecto al grupo de pacientes con ICA ($p = 0,037$).



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
NAC	73	5	15274	120365	253245	541060	-
NEO + NAC	7	750	815	22170	111310	673960	0,108
NEO	51	2	2088	8627	19995	183880	<0,001
ICA	46	853	1959	3895	7961	58649	<0,001
OTROS	11	235	639	4374	19796	93742	<0,001

Figura 21. Distribución de las concentraciones de IL-6 (pg/mL) en LP en los diferentes grupos de estudio.

Las características descriptivas del pequeño grupo de pacientes NEO+NAC, constituido tan solo por 7 pacientes, se detallan individualmente en la Tabla 24.

Parámetro	1	2	3	4	5	6	7
Edad (años)	86	83	84	61	50	64	62
Sexo	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Hombre
Hematíes *	290000	752000	400	101700	2000	492000	90000
Leucocitos *	71240	6800	230	178300	9220	186180	90000
PMN (%)	94	91	-	64	88	38	61
ADA (UI/L)	18,7	20,5	11,4	5,1	29,9	-	4
Glucosa ¥	158	127	222	-	79	1	39
Proteínas ¥	42	34	38	8	16	21	7995
LDH (UI/L)	860	-	66	15420	535	20000	13
IL-6 (pg/mL)	11310	2670	3142	750	673960	815	22170

FINE	146 (V)	163 (V)	164 (V)	191 (V)	150 (V)	144 (V)	132 (V)
Cultivo	§	Negativo	Negativo	<i>S. mirrelli</i>	Negativo	<i>E. coli</i>	§
Antibioterapia	No	Si	Si	No	Si	No	No
Desenlace	Alta	Exitus	Alta	Alta	Alta	Exitus	Alta

Tabla 24: Principales características de los siete pacientes que desarrollaron una NAC en el transcurso de una neoplasia. * células/ μ L; ¥ mg/dL; § Cultivo no realizado

Al realizar una comparación de la mediana de IL-6 de estos siete pacientes con respecto al grupo de neoplasia, no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,512$). Sin embargo, todos estos pacientes tuvieron la consideración clínica de pacientes NAC, con una puntuación FINE elevada. Como dato que se consideró definitivo, el origen del derrame pleural, desde el punto de vista clínico, se consideró que no estaba producido por causas neoplásicas, sino por causas infecciosas.

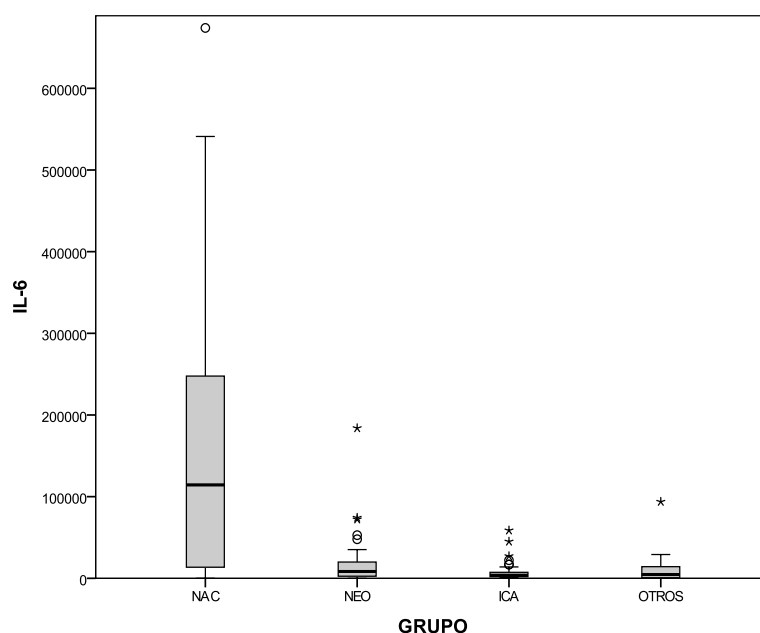
En este grupo de pacientes se produjeron dos casos de exitus (pacientes 2 y 6) y también hubo dos casos (pacientes 4 y 6) con una confirmación mediante un resultado positivo en el cultivo microbiológico. En los pacientes 2, 3 y 5 el resultado del cultivo fue negativo, si bien hay que tener en consideración que fueron pacientes sometidos a antibioterapia previa durante al menos 72 horas antes de la punción. En los pacientes 1 y 7 no se solicitó cultivo por parte del clínico.

A continuación, se verificó si existían diferencias significativas en cuanto a los parámetros bioquímicos de este grupo y el denominado grupo NAC en cuanto al recuento de hematíes, leucocitos, porcentaje de PMN, así como los parámetros bioquímicos: glucosa, proteínas, LDH e IL-6 (Tabla 25).

Parámetro	NAC	NEO+NAC	p
Hematíes/ μ L	8250	29000	0,417
Leucocitos/ μ L *	5208	71240	0,051
PMN (%)	79	76	0,774
Glucosa (mg/dL)	81,0	103	0,511
Proteínas (mg/dL)	45	34	0,06
LDH (UI/L)	835	698	0,767
IL-6 (pg/mL)	120365	22170	0,108

Tabla 25. Comparación de las medianas de los diferentes parámetros de los grupos NAC con respecto al grupo de pacientes que fueron diagnosticados de NAC en el transcurso de una neoplasia.

Tras comprobarse que en estos 7 pacientes que padecían neoplasia simultáneamente a un proceso NAC, no existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los principales parámetros citológicos y bioquímicos de los líquidos pleurales de los pacientes NAC, se decidió unificar ambos grupos de pacientes (Figura 22)



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
NAC	80	5	12795	114326	247778	673960	-
NEO	51	2	2088	8627	19995	183880	<0,001
ICA	46	853	1959	3895	7961	58649	<0,001
OTROS	11	235	639	4374	19796	93742	<0,001

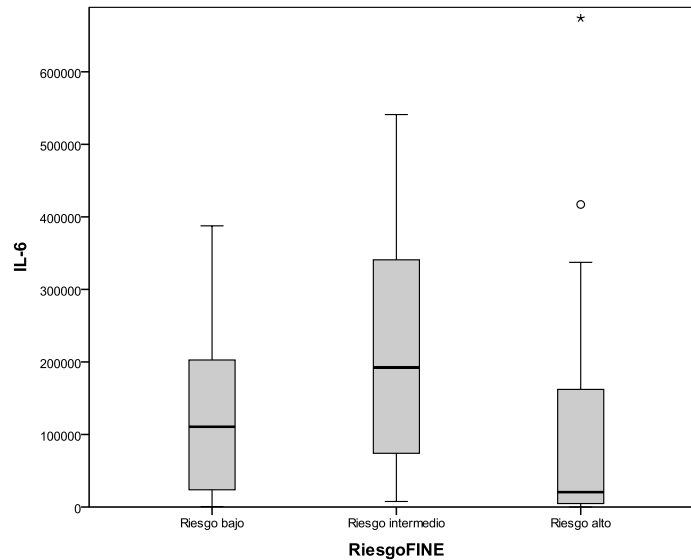
Figura 22. Distribución de las concentraciones de IL-6 (pg/mL) en LP tras integrar los 7 casos del grupo NAC+NEO en el grupo NAC

Con respecto a la estratificación en grupos de riesgo de los pacientes con la escala FINE, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de IL-6 que mostraron los pacientes de riesgo bajo con respecto a riesgo intermedio ($p = 0,019$), pero no así con respecto a los pacientes de alto riesgo ($p = 0,209$). Por su parte, tampoco se observaron diferencias significativas entre los pacientes de riesgo medio respecto a los pacientes de riesgo alto ($p = 0,345$) (

Figura 23).

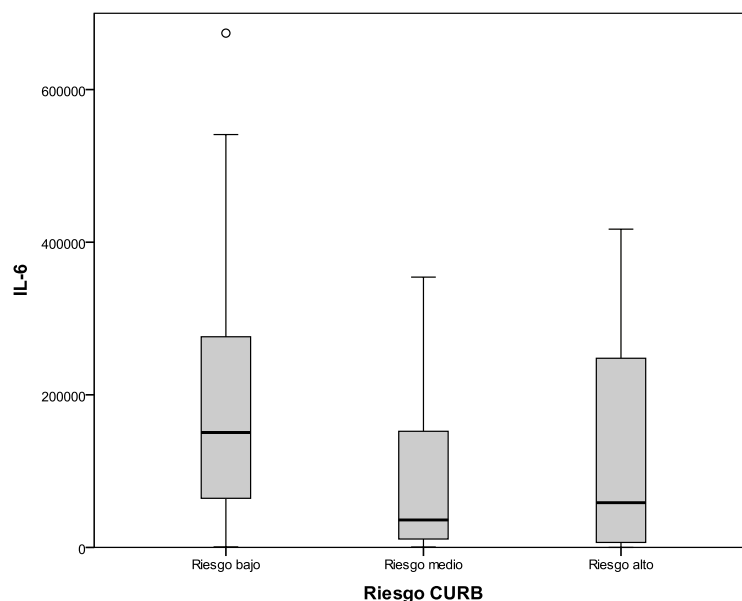
Al emplear la escala CURB-65, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de riesgo, salvo entre los pacientes de riesgo bajo al contrastarlos con los pacientes de riesgo intermedio ($p = 0,014$) (

Figura 24).



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo
Riesgo bajo	30	518	20474	110472	205858	387640
Riesgo intermedio	27	7629	64903	192345	344410	541060
Riesgo alto	23	5	4091	20610	169415	673960

Figura 23. Distribución de la concentración de IL-6 con respecto a los grupos de riesgo de pacientes NAC evaluados a través de la escala FINE

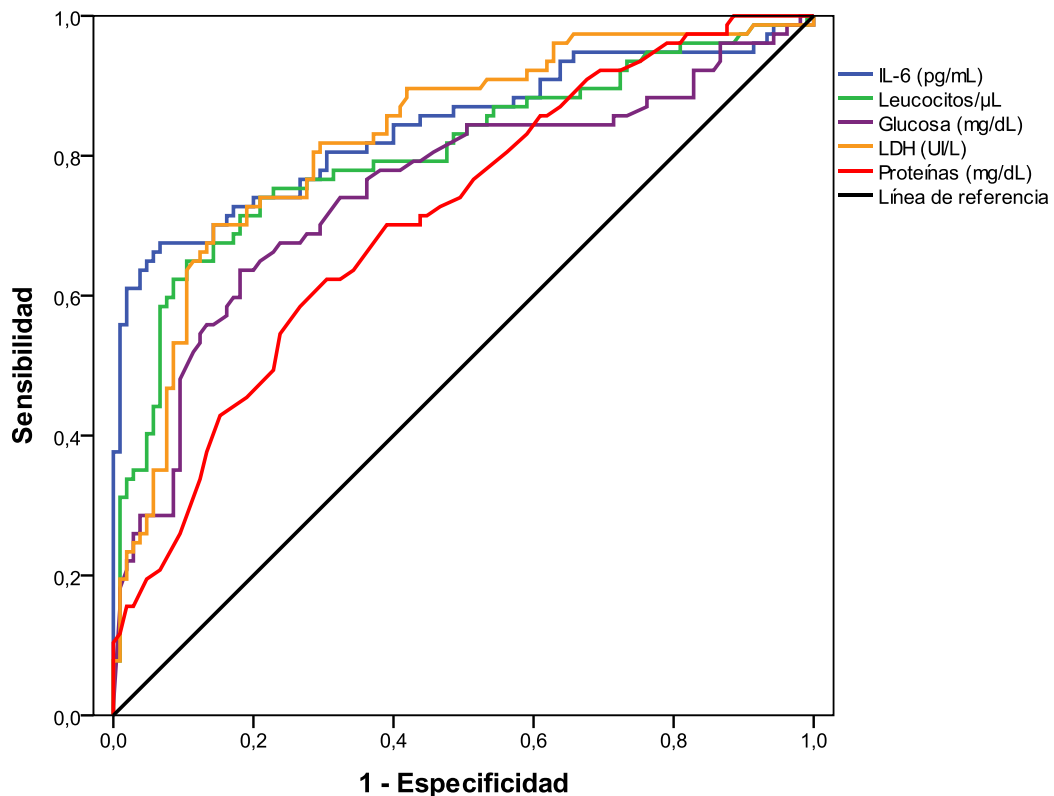


Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo
Riesgo bajo	43	666	63893	150529	276240	387640
Riesgo intermedio	20	7629	10899	35972	168598	541060
Riesgo alto	17	5	5315	58433	274275	673960

Figura 24: Distribución de la concentración de IL-6 con respecto a los grupos de riesgo de pacientes NAC evaluados a través de la escala CURB-65

Tras realizar el análisis ROC, la IL-6 presentó la mayor área bajo la curva (AUC: 0,840; IC95%: 0,777-0,908), con respecto al resto de marcadores clásicos, siendo la LDH el marcador que mejor rendimiento proporcionó (AUC: 0,825; IC95%: 0,764 - 0,887), seguido del recuento total de leucocitos (AUC: 0,805; IC95%: 0,764 – 0,887). A pesar de presentar mayor especificidad que el resto de marcadores, la IL-6 presenta menor sensibilidad, observándose solapamiento entre las curvas ROC de dichos marcadores (

Figura 25), de modo que no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre las AUC salvo para proteínas totales.

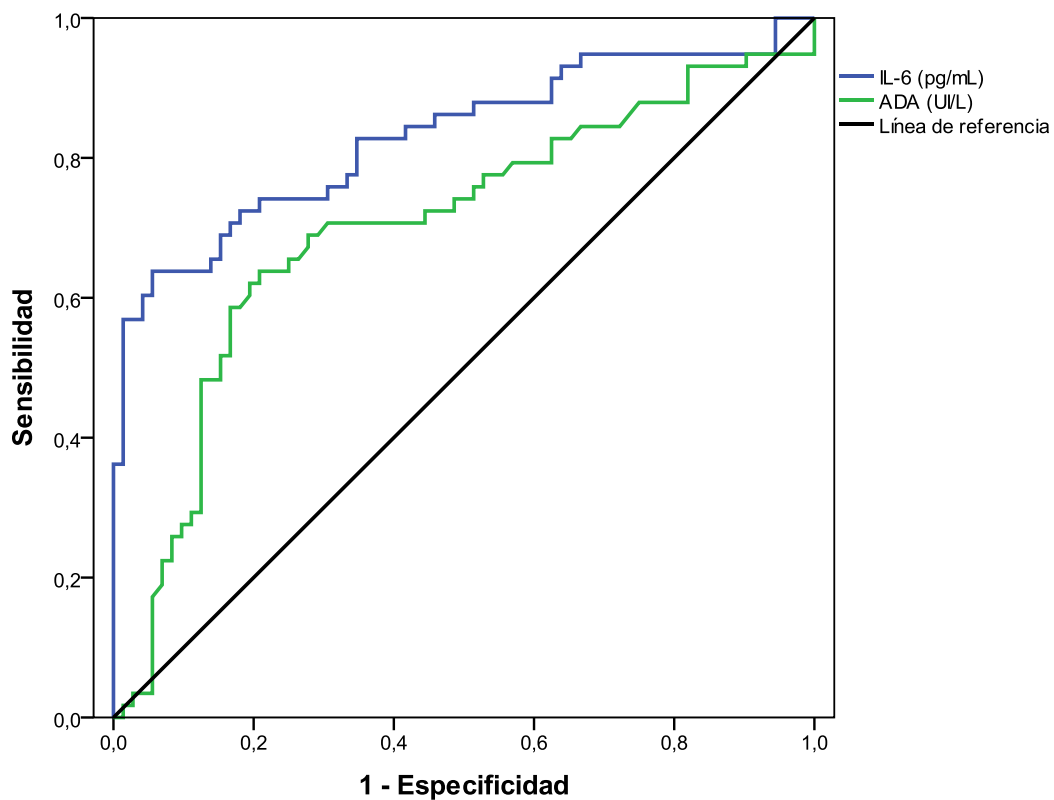


Marcador	AUC	Error Standard	IC 95%	p
----------	-----	----------------	--------	---

IL-6 (pg/mL)	0,840	0,032	0,777 – 0,904	-
Leucocitos/ μ L	0,805	0,032	0,764 – 0,887	0,410
Glucosa (mg/dL)	0,751	0,038	0,676 – 0,827	0,051
LDH (UI/L)	0,825	0,032	0,764 – 0,887	0,673
Proteínas (mg/dL)	0,710	0,038	0,635 – 0,785	0,001

Figura 25. Comparación del poder diagnóstico de IL-6 con respecto a otros marcadores para la diferenciación de NAC respecto a otras patologías.

La comparación entre IL-6 y ADA se realizó por separado para evitar perder potencia estadística debido a que la cuantificación de ADA se había realizado en menor número de pacientes con NAC ($n = 58$) y en menor número de pacientes con otras patologías ($n = 72$). El rendimiento diagnóstico de IL-6 fue mayor (AUC: 0,831; IC95%: 0,756-0,905) que el del ADA (AUC: 0,700; IC95%: 0,606-0,795), mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,005$) (Figura 26).



Marcador	AUC	Error Standard	IC 95%	p
IL-6 (pg/mL)	0,831	0,038	0,756 – 0,905	-
ADA (UI/L)	0,700	0,048	0,606 – 0,795	0,005

Figura 26. Comparación del poder diagnóstico de IL-6 con respecto a ADA en el diagnóstico de NAC.

La capacidad de estos marcadores para descartar la enfermedad, se valoró analizando el rendimiento de diferentes puntos de corte obtenidos con la curva ROC, tomando como referencia para la comparación, la eficacia observada con puntos de corte descritos en la bibliografía (Tabla 26).

Así, el punto de corte propuesto para LDH, 1000 UI/L, presentó una especificidad del 93,3%, y una sensibilidad del 35,1%; sin embargo, un recuento leucocitario de 4650 células/ μ L exhibe la misma especificidad, pero mejor sensibilidad (57,1%). Por su parte, un punto de corte de 45850 pg/mL de IL-6 para la misma especificidad, proporcionaría un 67,5% de sensibilidad.

El punto de corte de 10000 leucocitos/ μ L propuesto por las guías clínicas, proporciona un 98,1% de especificidad con un 32,5% de sensibilidad; valor que resulta menor (23,4%) si se utiliza un punto de corte de LDH (1530 UI/L) que consiga igualar dicha especificidad; sin embargo, para la IL-6, un punto de corte que aporte dicha especificidad (78886 UI/L) proporcionaría casi el doble de sensibilidad (61,0%).

Biomarcador	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IL-6 (pg/mL)	2874	94,8	34,3
	45850	67,5	93,3
	78686	61,0	98,1
Recuento celular (leucocitos/μL)	215	94,8	23,8
	4650	57,1	93,3
	10000 (guías clínicas)	32,5	98,1
Glucosa (mg/dL)	166,5	93,5	13,3
	50,5	28,6	93,3
	7,9	22,1	98,1
LDH (UI/L)	123	94,8	37,1
	1000 (guías clínicas)	35,1	93,3
	1530	23,4	98,1
Proteínas totales (mg/dL)	21,5	93,5	24,8
	50,5	20,8	93,3

	53,5	15,6	98,1
--	------	------	------

Tabla 26. Rendimiento de los puntos de corte propuestos en las guías clínicas, contrastados con los encontrados en el estudio, para maximizar S o E.

Por último, se valoraron los puntos de corte que presentaron la máxima sensibilidad para cada marcador (94,8% en el caso de IL-6, recuento celular y LDH; 93,5% en el caso de Glucosa y proteínas totales). En el caso de la IL-6, un punto de corte de 2874 pg/mL presentó un 34,3% de especificidad, siendo superado únicamente por el punto de corte de la LDH (123 UI/L), que presentó una especificidad del 37,1%. Los demás marcadores exhibieron especificidades entre el 13,3% y el 24,8%

2.3.- Estudio de validación de la medida de MR-proADM en LP

En primer lugar, se intentaron comparar los resultados obtenidos con el método de Kryptor con los medidos mediante un kit de ELISA comercial (Elabscience) cuyo fabricante declara adecuado para muestras de sangre y otros fluidos biológicos, con lo que se considera apto para LP. Las diferencias en prestaciones analíticas eran muy importantes: mientras que Kryptor es lineal hasta 10 nmol/L, para el método ELISA los rangos de calibración van de 15,63 a 10000 pg/mL, (factor de conversión no aportado por el fabricante) y, por tanto, los resultados de ambos métodos podían no ser transferibles. Se procesaron 156 muestras mediante ambos métodos (para comparar datos apareados), observando que el método ELISA carecía de capacidad analítica para detectar MRproADM en el 82,7% de las muestras analizadas (n = 129), mientras que sólo 18,6% eran indetectables con Kryptor (n = 29), el resto de las mismas muestras presentaban concentraciones del marcador entre 0,06 y 15,75 nmol/L. Los materiales de control de calidad de Kryptor, con concentraciones de 0,7 y 3 nmol/L, respectivamente, presentaban concentración muy parecida (8,22 y 6,76 pg/mL) cuando se analizaban por el método ELISA. Por su parte, el kit de ELISA no aportaba materiales de control de calidad valorados por el fabricante, de modo que tampoco se pudieron verificar las prestaciones analíticas en cuanto a sesgo e imprecisión, salvo con medidas por duplicado de los calibradores, donde se observaron CV inferiores a 4%.

Se optó por realizar un estudio de recuperación, para lo cual se preparó una mezcla de LP con aspecto transparente y color claro, con vistas a que constituyera la muestra matriz (MM) de partida. Se midió MR-proADM por triplicado en MM,

obteniendo un valor medio de 0,1 nmol/L. A partir de MM, se prepararon cuatro muestras por adición de cantidades diferentes del material de control de calidad suministrado para Kryptor, cuya concentración medida de MR-proADM fue de 3,2 nmol/L. El esquema de adición de control se realizó de modo que el volumen final siempre fuera de 1 mL, como se presenta en la

Tabla 27.

	MM	QC2
M1	0,1	0,9
M2	0,25	0,75
M3	0,45	0,65
M4	0,75	0,25
M5	0,9	0,1

Tabla 27. Preparación de las mezclas del estudio de recuperación de MR-proADM en LP. Se presentan los volúmenes (en μL) de MM y QC2 (Control de calidad nivel 2) adicionados en cada caso.

Los resultados obtenidos demostraron recuperación entre 83% y 110% a las diferentes concentraciones de MRproADM teóricas (0,35 a 3,1 nmol/L) (

Figura 27), lo que permitió considerar adecuada la determinación en la matriz deseada (LP).

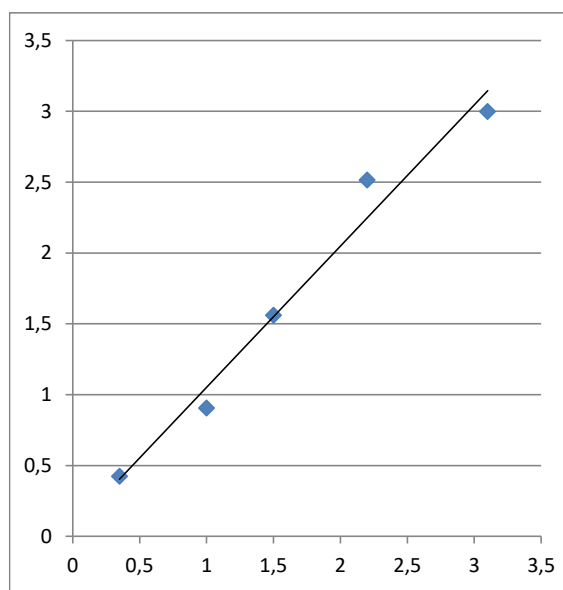


Figura 27. Estudio de recuperación de MR-proADM: representación gráfica de la cantidad adicionada con respecto a la cantidad recuperada.

2.4.- Otros usos de IL-6 y MR-proADM en LP

Se valoró la utilidad de IL-6 y de MR-proADM para clasificar los 188 LP que componen el estudio según su origen: exudado y trasudado. Para ello, inicialmente se aplicaron los criterios clásicos de Light, con los que se pudieron clasificar directamente un total de 68 LP, ya que cumplían al menos uno de los 4 criterios. Sin embargo, 13 líquidos no pudieron ser clasificados inicialmente por presentar criterios de Light contradictorios (al menos un criterio que orientaba hacia trasudado y otro que orientaba hacia exudado), o bien por presentar un único criterio, pero su valor de decisión se encontraba en el punto de corte (por ejemplo, cociente de proteínas LP/sangre = 0,5). La distribución inicial de estos 81 líquidos puede observarse en la Tabla 28, en la que puede apreciarse que el mayor número de casos de exudado recaía sobre el grupo NAC con 24 líquidos clasificados de un total de 39 exudados (61,5%); por su parte, el mayor número de trasudados correspondieron con los pacientes del grupo ICA, con un total de 13 líquidos sobre 29 (44,8%).

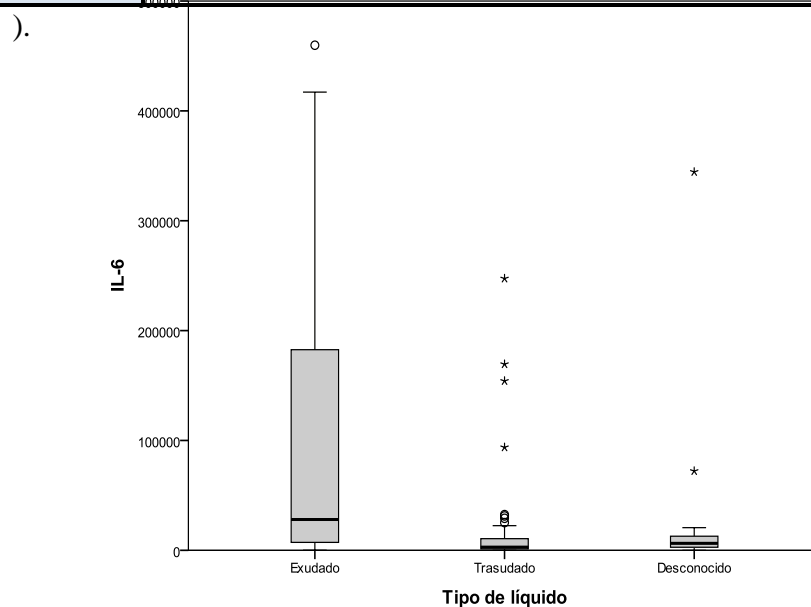
	Exudado	Trasudado	Criterios contradictorios
NAC	24	4	7
ICA	8	13	4
Neoplasia	7	6	2
Otros	0	6	0

Tabla 28. Distribución de los LP Clasificados por criterios de Light según patología

Los 107 líquidos restantes no tuvieron suficientes datos para ser clasificados con los criterios de Light clásicos, por lo que fueron clasificados, junto con los 13 líquidos dudosos, de acuerdo a los criterios alternativos previamente descritos: cuantificación directa de proteínas en LP (método más empleado), gradiente de albúmina y cuantificación de colesterol en LP. Estos criterios alternativos permitieron clasificar 91 líquidos, pero otros siete líquidos permanecieron sin ser clasificados por carecer de datos suficientes, y otros ocho líquidos, continuaron presentando resultados contradictorios incluso aplicando los criterios alternativos.

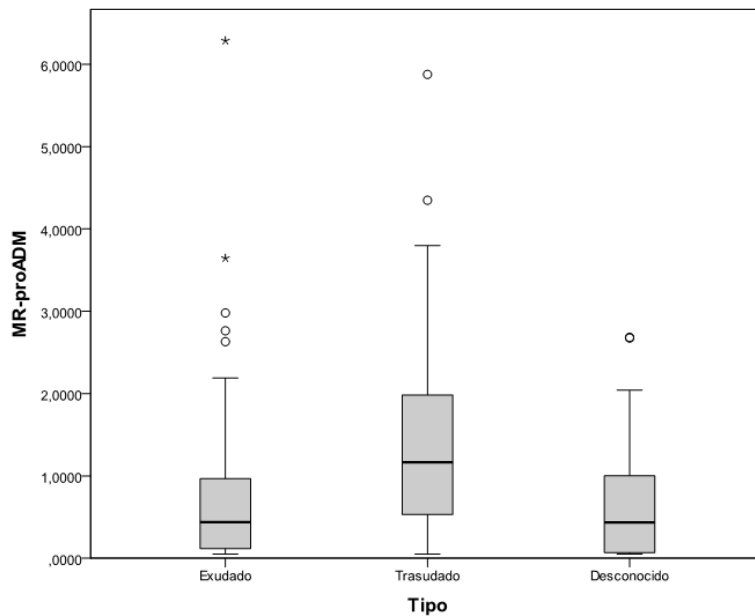
Al valorar la utilidad de IL-6 y MR-proADM para la clasificación de los líquidos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos definidos bien por los criterios de Light o bien por los alternativos ($p < 0,001$), para ambos marcadores. Cabe destacar que las concentraciones más elevadas de IL-6 se hallaron en exudados (Figura 28) mientras que en el caso de MR-proADM, los valores más elevados corresponden a los trasudados (

Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo
Exudado	110	0,05	0,115	0,438	0,968	6,29
Trasudado	62	0,05	0,529	1,166	1,984	15,75
Desconocido	16	0,05	0,05	0,436	1,162	2,68



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Max
Exudado	110	88	7146	27818	182934	541060
Trasudado	62	2	1240	2944	10951	673960
Desconocido	16	5	2600	6499	13597	344410

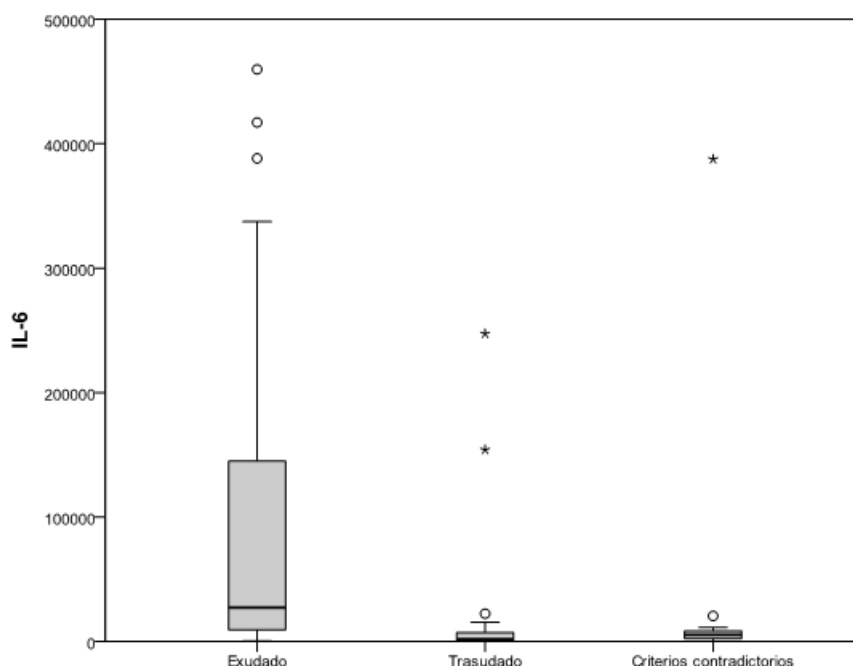
Figura 28. Distribución de la concentración de IL-6 (pg/mL) en los diferentes líquidos pleurales clasificados de acuerdo a los criterios de Light clásicos y alternativos



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo
Exudado	110	0,05	0,115	0,438	0,968	6,29
Trasudado	62	0,05	0,529	1,166	1,984	15,75
Desconocido	16	0,05	0,05	0,436	1,162	2,68

Figura 29. Distribución de la concentración de MR-proADM (nmol/L) en los diferentes líquidos pleurales clasificados de acuerdo a los criterios de Light

A continuación, se valoró la capacidad discriminatoria de IL-6 entre trasudados y exudados. Para ello, inicialmente se compararon las concentraciones de IL-6 teniendo en consideración únicamente los LP que habían sido clasificados directamente con los criterios clásicos de Light. Cuando se compararon las medianas de la concentración de los líquidos clasificados como exudados con respecto a los líquidos clasificados como trasudados (Figura 30), se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Max
Exudado	39	518	9389	27132	154884	459770
Trasudado	29	235	936	1996	8028	247381
Criterios contradictorios	13	200	2256	5638	9941	387640

Figura 30. Distribución de la concentración de IL-6 (pg/mL) en los LP a los que se les pudo aplicar los criterios de Light

En la gráfica se observaron valores extremos, algunos de ellos muy alejados de la mediana correspondiente a su grupo. En la Tabla 29 se detallan dichos valores extremos, tres de ellos pertenecientes al grupo de trasudados, y dos de ellos que presentaron criterios de Light tanto de exudado como de trasudado. Cuatro de las cinco muestras correspondían a pacientes del grupo NAC, presentaban alta celularidad, pero con valores dispares de glucosa, proteínas y LDH. La quinta muestra pertenecía a un paciente diagnosticado de neoplasia con escasa celularidad.

Variable	1	2	3	4	5
Edad (años)	57	32	69	59	62
Sexo	Mujer	Hombre	Hombre	Hombre	Mujer
Diagnóstico	NAC	NAC	Neoplasia	NAC	NAC
Leucocitos (células/ μ L)	6500	5369	31	86420	8301
PMN (%)	79	91	-	81	78
Glucosa (mg/dL)	2	81	116	256	89
Proteínas LP (mg/dL)	22	21	31	67	17
Proteínas suero (mg/dL)	71	45	67	82	42
LDH LP (UI/L)	4714	1134	-	208	554
LDH Suero (UI/L)	-	-	-	478	419
* Light: LDH	-	-	-	0,44 (T)	1,32 (E)
¥ Light: VR LDH	-	-	-	150 (E)	142,7 (E)
§ Light: Proteínas	0,31 (T)	0,46 (T)	0,46 (T)	0,82 (E)	0,40 (T)
IL-6 (pg/mL)	247381	154132	22427	387640	20610

Tabla 29. Valores extremos observados en la clasificación por los criterios de Light.

* Criterio de Light cociente de LDH. ¥ Criterio de Light 2/3 del valor de referencia de LDH. § Criterio de Light cociente de proteínas. (T): Trasudado. (E): Exudado.

El análisis mediante curva ROC (Figura 31) presentó una AUC de 0,832 (IC95%: 0,741 – 0,922), por lo que permitió buscar un posible punto de corte para discriminar exudados. El punto de corte seleccionado fue 10562 pg/mL, ya que aportaba una sensibilidad del 71,8% y una especificidad del 81%. Este punto de corte, además, no sólo era superior al percentil 75 de los trasudados (8028 pg/mL) y de los líquidos no clasificados por criterios contradictorios (9941 pg/mL), sino también superior al percentil 25 de los líquidos clasificados directamente como exudado por los criterios de Light (9389 pg/mL).

Una vez establecido un punto de corte, se comparó la distribución de los 188 LP de acuerdo a los criterios de Light y los criterios alternativos con respecto a una posible reclasificación atendiendo al punto de corte de IL-6 de 10562 pg/mL (Tabla 30). Se observó que la IL-6 permite la reclasificación del 17,4% de los LP del grupo ICA y del 11,8% de las muestras del grupo neoplasia como trasudados, y no deja de identificar ningún caso de NAC clasificado como exudado.

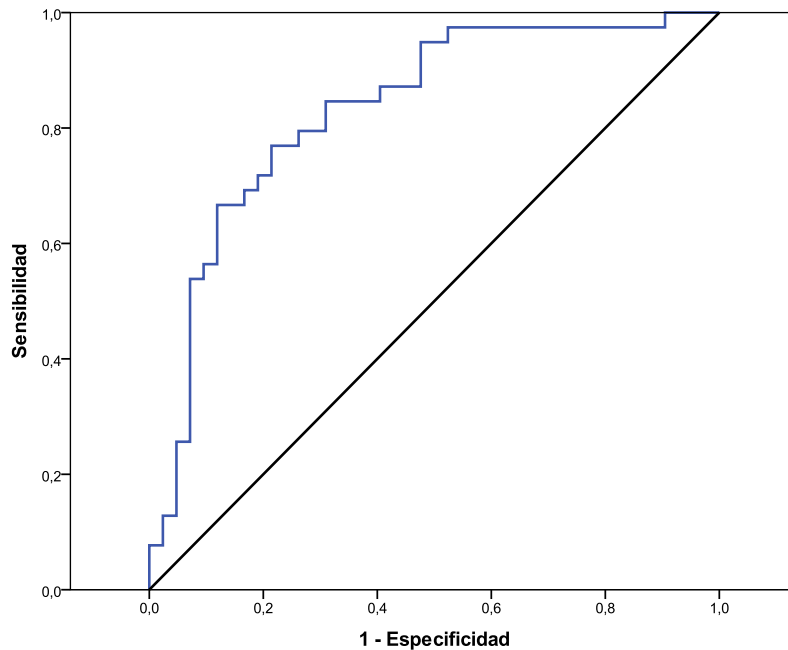


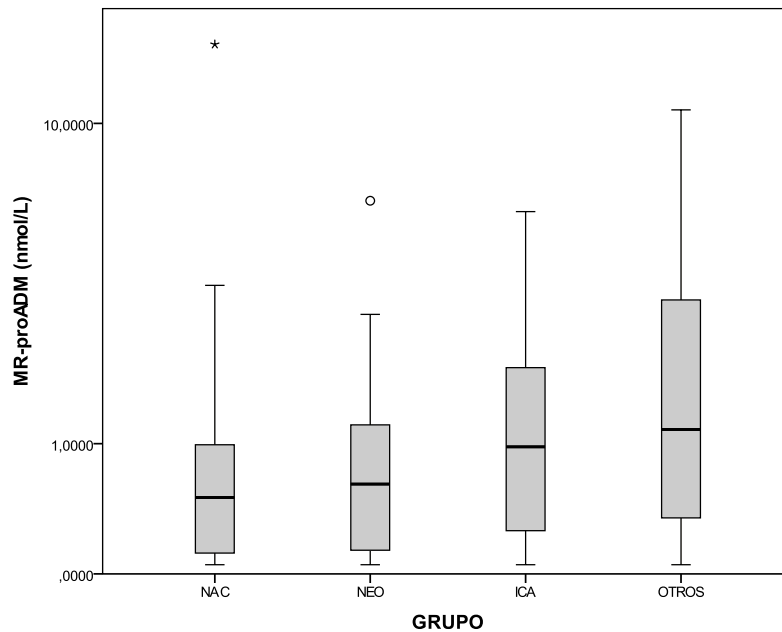
Figura 31. Curva ROC de IL-6 para la discriminación de exudados frente a trasudados y líquidos dudosos según los criterios de Light

	Criterio Light y alternativos			Criterio IL-6	
	Exudado	Trasudado	Dudoso	Exudado	Trasudado
NAC	64	10	6	64	16
ICA	12	28	6	10	36
Neoplasia	34	14	3	21	30
Otros	0	11	0	3	8

Tabla 30. Distribución de los 188 LP de acuerdo a los criterios de Light y los criterios alternativos con respecto a la clasificación según el punto de corte de IL-6

2.5.- MR-proADM como marcador diagnóstico de neumonía

Se cuantificó la concentración de MR-proADM en LP para todos los grupos de pacientes (Figura 32). La mediana observada en el grupo de pacientes con NAC fue inferior a la correspondiente a los demás grupos, aunque sin llegar a mostrar diferencias estadísticamente significativas.

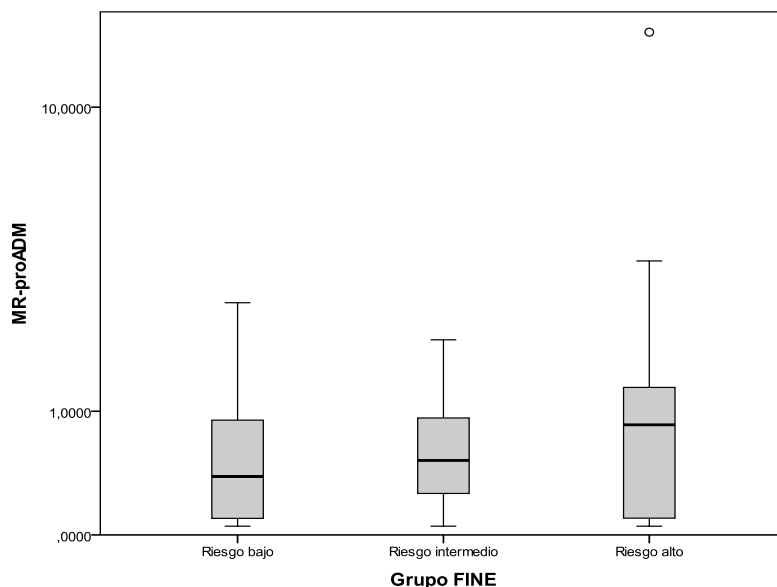


Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Max	p
NAC	71	0,050	0,116	0,501	1,004	15,750	-
NEO	48	0,050	0,128	0,616	1,216	6,287	0,704
ICA	43	0,050	0,176	0,966	2,018	5,878	0,060
OTROS	11	0,050	0,185	1,157	3,744	10,820	0,067

Figura 32. Distribución de las concentraciones de MR-proADM (nmol/L) en LP en los diferentes grupos de estudio.

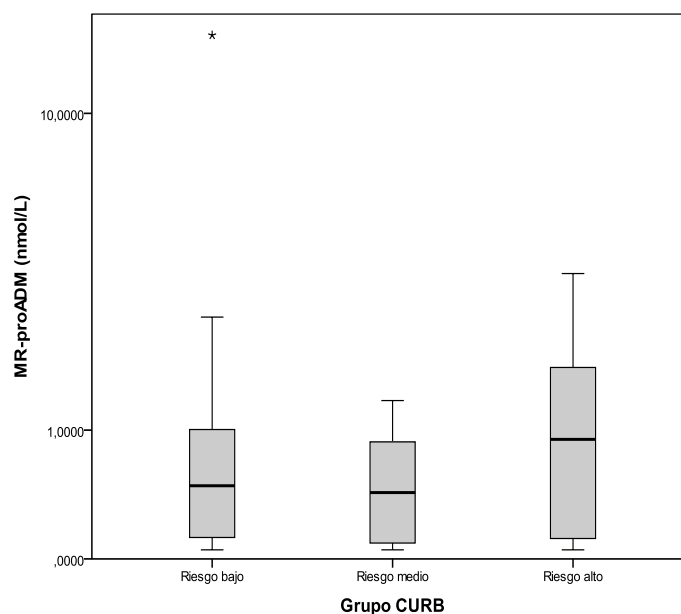
Al realizar una estratificación de los pacientes en grupos de riesgo con la escala FINE, se observó que la mediana era superior en los grupos de pacientes que presentaban mayor riesgo. Sin embargo, a pesar de existir esta aparente tendencia en las medianas, las diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas al comparar el grupo de bajo riesgo con el intermedio ($p = 0,417$) y tampoco con el de mayor riesgo ($p = 0,471$). Esta misma situación se observó entre los pacientes de riesgo intermedio y alto riesgo ($p = 0,905$).

Al emplear la escala CURB-65, a pesar de observarse medianas superiores en el grupo de riesgo alto, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Figura 33 y Figura 34).



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo
Riesgo bajo	27	0,050	0,089	0,388	0,909	2,675
Riesgo intermedio	26	0,050	0,256	0,520	0,946	1,986
Riesgo alto	18	0,050	0,863	0,853	1,415	15,750

Figura 33. Distribución de la concentración de MR-proADM (nmol/L) con respecto a los grupos de riesgo de pacientes NAC evaluados a través de la escala FINE

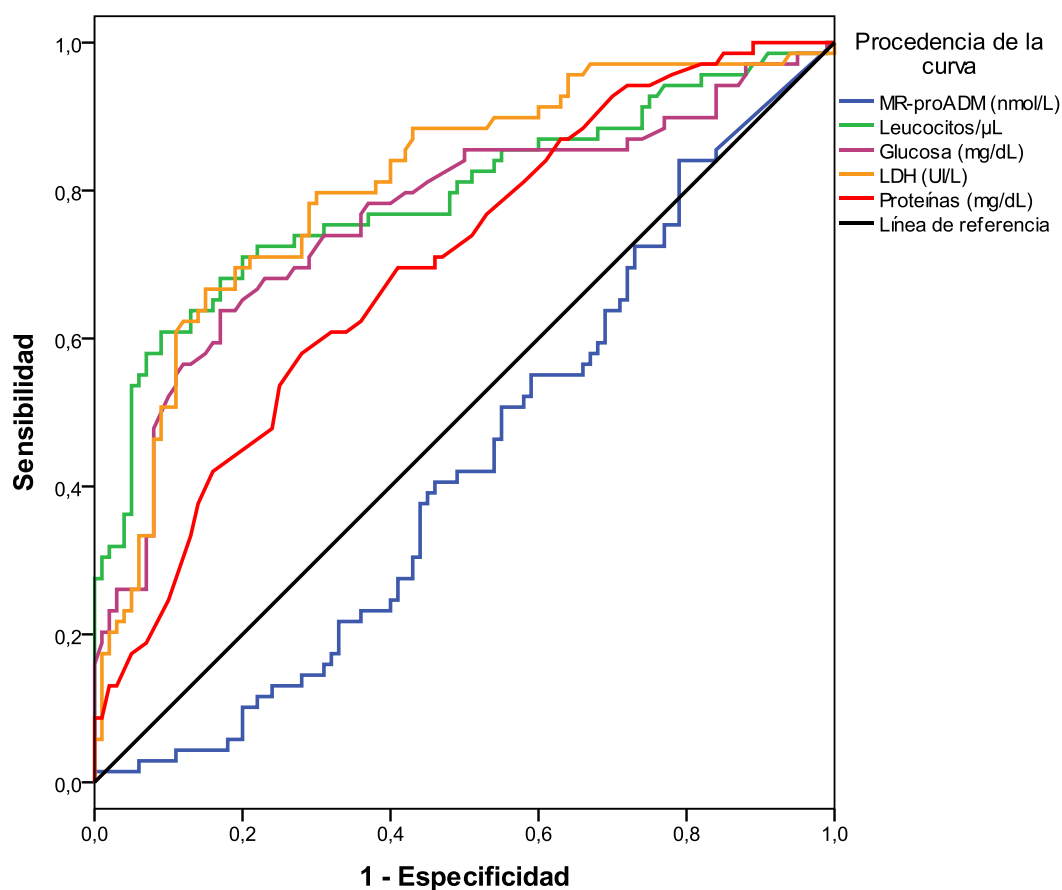


Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Maximo
Riesgo bajo	39	0,050	0,118	0,482	1,090	15,750
Riesgo intermedio	18	0,050	0,079	0,433	0,882	1,345
Riesgo alto	14	0,050	0,112	0,906	1,848	3,645

Figura 34. Distribución de la concentración de MR-proADM (nmol/L) con respecto a los grupos de riesgo de pacientes NAC evaluados a través de la escala CURB-65

En el análisis ROC (

Figura 35), MR-proADM presentó la menor área bajo la curva de todos los marcadores estudiados, que no era estadísticamente significativa (AUC: 0,433; IC95%: 0,347-0,519). Por ese motivo, este marcador no se incluyó en el análisis multivariante para diagnóstico de NAC.



Marcador	AUC	Error Standard	IC 95%
Mr-proADM (nmol/L)	0,433	0,044	0,347 – 0,519
Leucocitos/ μ L	0,791	0,038	0,718 – 0,865
Glucosa (mg/dL)	0,764	0,039	0,686 – 0,841
LDH (UI/L)	0,807	0,035	0,739 – 0,875
Proteínas (mg/dL)	0,698	0,040	0,686 – 0,841

Figura 35. Comparación del poder diagnóstico de MR-proADM con respecto a otros marcadores para la diferenciación de NAC respecto a otras patologías.

2.6.- Análisis multivariante

Una vez evaluada la asociación de NAC con cada uno de los marcadores, se buscaron posibles asociaciones bivariadas entre ellos para seleccionar los que deberían incluirse en el análisis multivariante y detectar posibles interacciones o factores de confusión.

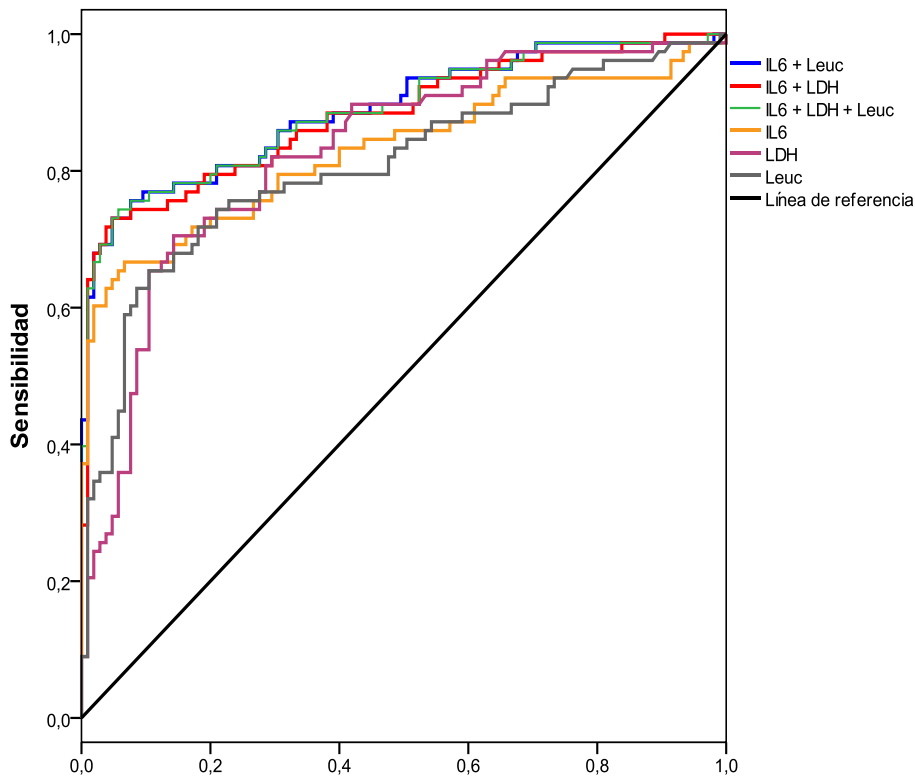
Como cabía esperar, dados los resultados descritos en el apartado anterior, MR-proADM no mostró correlación estadísticamente significativa con ningún marcador clásico, salvo una asociación inversa y débil ($r = -0,266$) con la LDH (Tabla 31). La IL-6, sin embargo, sí que mostró una correlación significativa con los marcadores clásicos, salvo el recuento leucocitario, aunque con grados de asociación que podrían considerarse entre débiles (glucosa, proteínas y LDH; $r < 0,4$) y moderados (ADA, $p = 0,564$).

		ADA	Proteínas	Leucocitos	LDH	Pro-ADM	IL-6
Glucosa	Coefficiente	0,426	0,208	0,171	0,555	-0,218	0,308
	Valor p	0,001	0,066	0,135	<0,001	0,069	0,006
ADA	Coefficiente		0,184	-0,082	0,540	-0,126	0,564
	Valor p		0,167	0,543	<0,001	0,373	<0,001
Proteínas	Coefficiente			0,193	0,192	-0,201	0,388
	Valor p			0,089	0,091	0,093	<0,001
Leucocitos	Coefficiente				0,368	-0,155	0,105
	Valor p				0,001	0,199	0,359
LDH	Coefficiente					-0,266	0,331
	Valor p					0,025	0,003
MR-ProADM	Coefficiente						0,127
	Valor p						0,290

Tabla 31. Coeficientes de correlación entre IL-6, MR-proADM y los marcadores clásicos

Con la finalidad de buscar una asociación de marcadores que presentara un mayor poder diagnóstico, se realizó un nuevo análisis ROC comparando el rendimiento que podría añadir la determinación de IL-6 en LP además de los marcadores clásicos. Se observó que la combinación de IL-6 con el recuento de leucocitos fue la que presentaba

mayor rendimiento (AUC: 0,889), con diferencias estadísticamente significativas al compararla con respecto a la LDH, dado que éste fue el marcador con mejor rendimiento dentro de los clásicos, muy similar al de la IL-6 por sí sola (Figura 36).



Marcador	AUC	Error Standard	IC 95%	p
LDH (UI/L)	0,828	0,031	0,767 – 0,889	-
IL-6 (pg/mL)	0,830	0,033	0,765 – 0,896	0,9500
Leucocitos/ μ L	0,807	0,034	0,740 – 0,875	0,567
IL-6 (pg/mL) + LDH (UI/L)	0,881	0,027	0,828 – 0,934	0,040
IL-6 (pg/mL) + Leucocitos/ μ L	0,889	0,026	0,838 – 0,940	0,028
IL-6 (pg/mL) + LDH (UI/L) + Leucocitos/ μ L	0,888	0,026	0,837 – 0,939	0,027

Figura 36. Comparación del poder diagnóstico de IL-6 en combinación con LDH y el recuento leucocitario para la diferenciación de NAC respecto a otras patologías.

En realidad, la capacidad discriminante que añade la cuantificación de IL-6 en LP no parece cambiar significativamente si se evalúa conjuntamente con el recuento leucocitario, con la actividad de LDH o con ambos, al margen de limitaciones individuales que pueden afectar a muestras concretas, como se ha ido describiendo a lo largo de la presente memoria de tesis doctoral.

Tras evaluar la asociación de NAC con cada uno de los marcadores de forma individual, se estudió, mediante regresión logística univariante, la asociación de la NAC con determinados factores presentes en la población de estudio, como el sexo (hombre/mujer), la exposición al tabaco (fumadores activos o exfumadores), la exposición laboral (exposición al amianto o actividad profesional relacionada con la minería), enfermedades de base (EPOC e insuficiencia renal), la exposición previa a antibióticos, y la clasificación del derrame según su origen (trasudado/exudado). No se observaron contribuciones significativas en la mayoría de los factores, salvo la edad (Tabla 32).

Variable	Coef. Regres.	E.T	OR (IC95%)	p
Sexo				
Hombre	0,386	0,468	1,47 (0,59 – 3,68)	0,409
Tabaquismo				
Fumador/exfumador	0,186	0,459	1,21 (0,49 – 2,96)	0,685
Exposición profesional				
Minería/amianto	0,298	0,622	1,35 (0,40 – 4,55)	0,632
EPOC				
EPOC	0,255	0,547	1,29 (0,44 – 3,77)	0,641
Insuficiencia renal (IR)				
IR	0,142	0,523	1,15 (0,41 – 3,21)	0,785
Edad				
>71	-1,219	0,333	0,30 (0,15 – 0,57)	0,000

Tabla 32. Modelo de regresión logística univariante para el diagnóstico de NAC

Análogamente, se seleccionaron entre los parámetros analíticos, los marcadores clásicos con mejor rendimiento diagnóstico individual (el recuento de leucocitos y la cuantificación de LDH en LP) y la IL-6, dicotomizados de acuerdo con los puntos de corte de las guías clínicas, descritos anteriormente, en el caso de los marcadores clásicos (10000 células/ μ L para los leucocitos y 1000 UI/L para la LDH) y, para IL-6 se asumió el punto de corte que presentaba mayor sensibilidad (45850 pg/mL).

La asociación de cada uno de estos marcadores con la NAC resultó estadísticamente significativa y de magnitud relevante a la vista de los resultados que se muestran en la Tabla 33.

Variable	OR (IC95%)	p
Leucocitos > 10000 células/ μ L	25,26 (5,78 – 110,53)	<0,001
LDH > 1000 UI/L	7,25 (3,09 – 17,02)	<0,001
IL-6 > 45850 pg/mL	26,80 (10,97 – 65,46)	<0,001

Tabla 33. Modelo de regresión logística univariante

Todas estas variables fueron incluidas, junto con la edad en un análisis logístico multivariante, cuyos resultados se muestran en la Tabla 34.

Variable	OR (IC95%)	p
Edad >71 años	0,43 (0,19 – 1,01)	0,053
Leucocitos > 10000 células/ μ L	12,37 (2,33 – 65,77)	0,003
LDH > 1000 UI/L	1,59 (0,48 – 5,30)	0,452
IL-6 > 45850 pg/mL	18,16 (6,67 – 49,42)	<0,001

Tabla 34. Modelo de regresión logística multivariante para el diagnóstico de NAC

Tanto el recuento leucocitario como la IL-6 mostraron asociación significativa con el desarrollo de la NAC (OR 12,4 y 18,2 respectivamente). Cabe destacar que, una vez se controla la contribución de dichos marcadores, un valor de LDH superior a 1000 UI/L no resulta significativo y sale del modelo de regresión final. Por otra parte, en el análisis multivariante, la edad superior a 71 años mostró un OR de 0,43 con un valor próximo a la significación estadística ($p = 0,053$).

2.7.- IL-6 y MR-proADM como marcadores de pronóstico

2.7.1.- Características de la población

Para estudiar el impacto de los marcadores de estudio y su relación con el pronóstico de los pacientes, se agruparon en dos categorías: aquellos pacientes que habían recibido el alta hospitalaria sin posteriores complicaciones graves, y aquellos que fallecieron antes de cumplir 30 días tras la toracocentesis, ya fuera durante el propio ingreso, o bien tras haber recibido alta (Tabla 35).

Variable	Alta	Exitus
Pacientes (n)	151	37
Edad (años)	69 (57 -80)	70 (64 - 81)
Mujeres, n (%)	39 (25,8)	13 (35,1)
Hematíes (células/ μ L)	5000 (800 – 18000)	5000 (900 - 17500)
Leucocitos (células/ μ L)	1580 (354 – 7400)	920 (318 – 2124)
PMN (%)	61 (11 – 82)	34 (13 – 52)
Linfocitos (%)	32 (14 – 66)	47 (19 – 75)
Glucosa (mg/dL)	106 (67,2 – 128)	119 (93 – 145,5)
Proteínas totales (mg/dL)	38 (26 – 48)	33 (23,5 – 44)
LDH (UI/L)	288 (114 - 878)	214 (148 - 425)

Tabla 35. Descripción de la población de pacientes a los que se les practicó toracocentesis, de acuerdo al desenlace del proceso. Los resultados están expresados como mediana (intervalo intercuartílico), excepto la proporción de mujeres que está expresada en frecuencia, n (%)

En cuanto a la distribución de los 37 pacientes que fallecieron, 22 pacientes (59,5%) habían recibido diagnóstico de neoplasia, siete (18,9%) presentaron NAC, otros siete 7 pacientes ICA (18,9%) y, por último, un paciente (2,7%) presentaba otra patología (derrame de origen iatrogénico). Con respecto a los siete fallecimientos registrados dentro del grupo NAC, dos de los pacientes estaban clasificados en la clase III de la escala FINE, y los otros cinco en la clase V.

Con respecto a los factores de riesgo, se clasificaron los 188 pacientes de acuerdo a los factores de riesgo recogidos de historia clínica: tabaquismo, exposición profesional y EPOC, y con respecto al desenlace: alta o exitus (Tabla 36). De los 37 pacientes que fueron exitus, 21 eran fumadores o exfumadores (56,8%), cuatro habían sufrido exposición profesional (10,8%), y los restantes cinco (13,5%) padecían EPOC. Estos porcentajes son similares a la incidencia de dichos factores descritos en el apartado 2.1.1.

2.7.2.- IL-6 y MR-proADM como marcador de pronóstico

Para visualizar la potencial utilidad de IL-6 y MR-proADM como marcadores de pronóstico, se representó un diagrama de cajas y barras que contrastase la concentración de ambos marcadores con respecto a la población distribuida en dos grupos: aquellos que fueron dados de alta, y aquellos que fueron exitus antes de 30 días, estratificados, además, según la patología.

Factor de riesgo	ALTA	EXITUS	TOTAL
<i>Tabaquismo</i>			
Nunca fumador	72	16	88
Fumador o exfumador	79	21	100
<i>Exposición profesional</i>			
No expuesto	131	33	164
Minería / amianto	20	4	24
<i>EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica)</i>			
No EPOC	127	32	159
EPOC (I-III)	24	5	29

Tabla 36. Factores de riesgo relacionados que presentaron los pacientes en el estudio de LP.

Cuando se realizó la comparación entre las concentraciones de IL-6 en LP observadas en los diferentes grupos de pacientes (Tabla 22

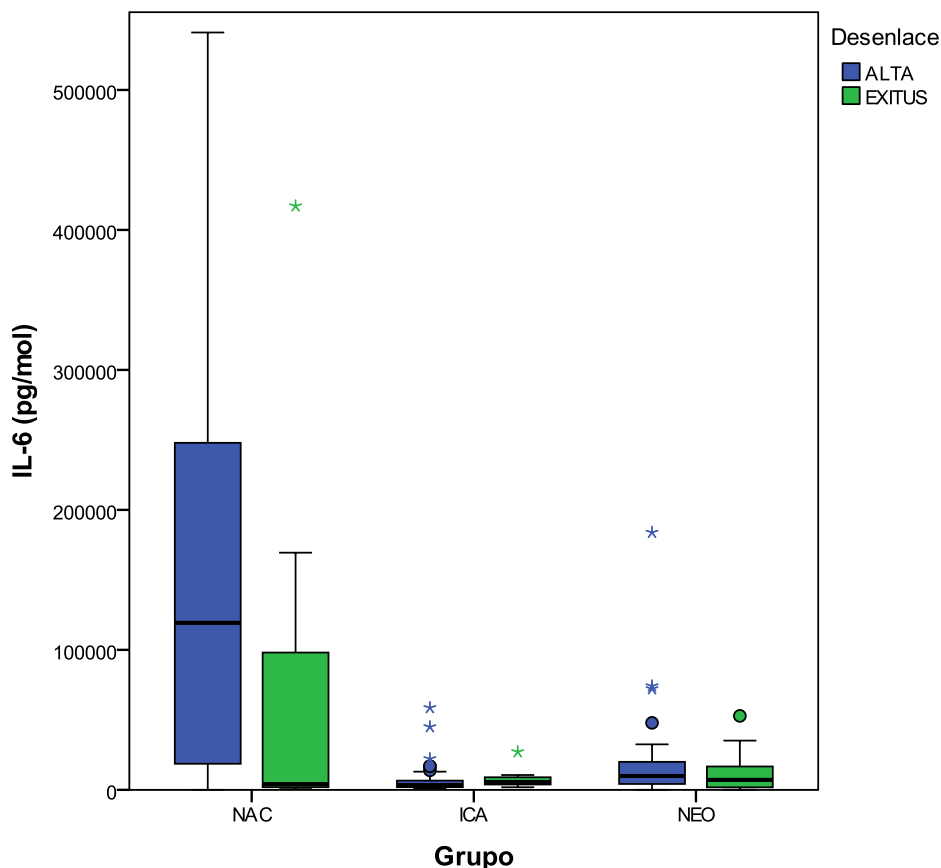
Figura 22), se observaron diferencias significativas entre el grupo NAC y los

Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
NAC	80	5	12795	114326	247778	673960	-
NEO	51	2	2088	8627	19995	183880	<0,001
ICA	46	853	1959	3895	7961	58649	<0,001
OTROS	11	235	639	4374	19796	93742	<0,001

demás grupos ($p < 0,001$). Sin embargo, al realizar esta misma comparación por grupos, pero aplicándola únicamente a los pacientes que fueron exitus (Figura 37), las medianas entre los grupos fueron similares: 4091 pg/mL para los pacientes NAC, 5459 pg/mL en los pacientes ICA y 7250 pg/mL en los pacientes con neoplasia, sin observarse diferencias significativas entre ellos ($p = 0,988$).

Al comparar las medianas dentro del grupo NAC se observa que los pacientes que fueron dados de alta presentaron una mediana considerablemente más elevada

(119418 pg/mL) que la de los pacientes que fallecieron (4091 pg/mL), pero sin alcanzar significación estadística ($p = 0,075$).

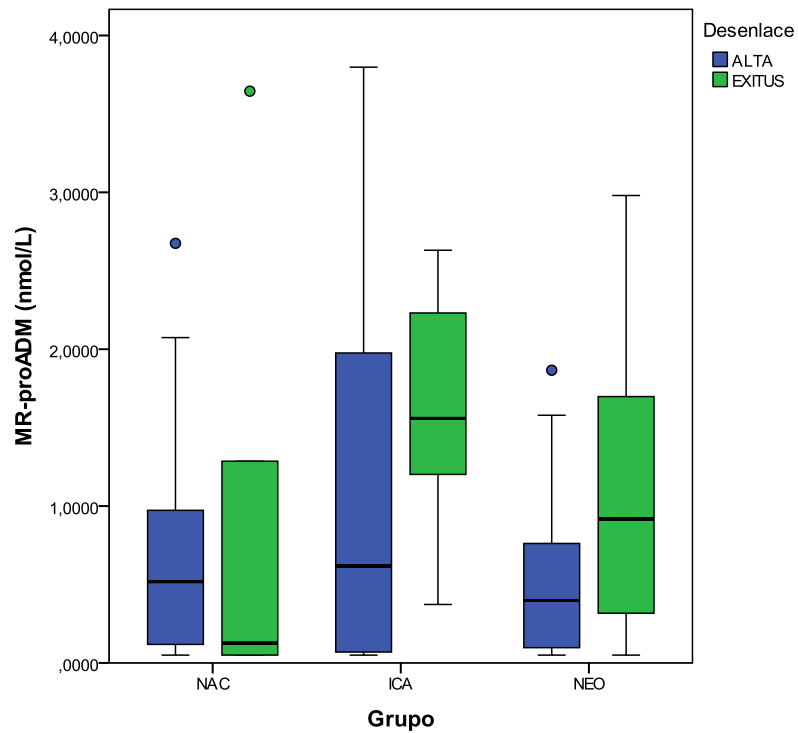


Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
NAC	Alta	73	5	17010	119418	253245	0,075
	Exitus	7	518	815	4091	169415	
ICA	Alta	39	853	1808	3500	6971	0,204
	Exitus	7	1847	3247	5459	10599	
NEO	Alta	29	2	4094	9996	21487	0,287
	Exitus	22	88	1658	7250	18118	

Figura 37. Distribución de la concentración de IL-6 (pg/mL) de los pacientes que fueron dados de alta y los pacientes que fallecieron.

De forma similar, al contrastar las medias de MR-proADM de los pacientes que fallecieron, se observan valores dispares: 0,126 nmol/L en el caso de pacientes con NAC; 1,559 nmol/L en los pacientes con ICA; y finalmente 0,918 nmol/L en los pacientes con neoplasia (Figura 38), pero sin llegar a observarse significación estadística ($p = 0,144$). Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas ($p = 0,017$) al comparar la mediana de MRproADM en pacientes con neoplasia que fueron

datos de alta (0,398 nmol/L) con respecto a los pacientes que causaron exitus (0,918 nmol/L).



Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
NAC	Alta	66	0,050	0,118	0,518	0,981	0,669
	Exitus	5	0,050	0,050	0,126	2,466	
ICA	Alta	36	0,050	0,060	0,618	1,977	0,098
	Exitus	7	0,373	0,966	1,559	2,305	
NEO	Alta	27	0,050	0,075	0,398	0,762	0,017
	Exitus	21	0,050	0,293	0,918	1,698	

Figura 38. Distribución de la concentración de MR-proADM (nmol/L) de los pacientes que fueron dados de alta y los pacientes que fallecieron. P 0,144 entre grupos

DISCUSIÓN

1.- IL-6 EN LCR

El diagnóstico de la meningitis se fundamenta en la sintomatología clínica del paciente y las características bioquímicas y citológicas del LCR obtenido por punción lumbar^{12,161}. Es esencial establecer desde un primer momento la etiología de la meningitis, para así poder administrar un tratamiento correcto de forma temprana. A diferencia de las meningitis víricas o asépticas, la meningitis bacteriana puede tener consecuencias graves para el paciente, especialmente si se retrasan el diagnóstico y el tratamiento^{162,163}.

Se pueden encontrar concentraciones bajas de glucosa (< 40 mg/dL) en aproximadamente el 50-60% de los casos de meningitis bacterianas y, en ocasiones, también una concentración de proteínas incrementada. Sin embargo, la relación de glucosa entre LCR y sangre representa una mejor herramienta diagnóstica (un cociente $\leq 0,4$ teóricamente debería proporcionar un 80% de sensibilidad y 98% de especificidad). Por otra parte, la tinción de Gram en LCR permitiría realizar un diagnóstico rápido en un 60-90% de los casos de meningitis bacteriana, aunque hay que tener en cuenta que la proporción de falsos negativos es elevada. Si se realiza un cultivo del LCR, se puede obtener un resultado positivo en el 70-85% de los casos de meningitis bacteriana, pero se requieren al menos 48 horas para obtener un resultado¹². Por ese motivo, las pruebas microbiológicas no son tan empleadas en la práctica clínica en el diagnóstico inicial, sino que se utilizan más para confirmar la infección y optimizar el tratamiento.

Por todas estas razones, tiene un gran interés la búsqueda de nuevos marcadores que permitan realizar un diagnóstico rápido y certero de la meningitis. Algunos biomarcadores relacionados con la inflamación, como la PCR cuantificada en LCR, ya ha sido muy estudiada durante los últimos 30 años^{164,165,166}. Sin embargo, los resultados son controvertidos, pues se han descrito sensibilidades entre 18 y 100%, y especificidades entre el 75 y el 100%, según los diferentes puntos de corte descritos. La PCT también se ha postulado con un marcador eficiente para diagnosticar la meningitis^{100,101,167}. Sin embargo, los resultados no son concluyentes, y algunos estudios también han descrito hallazgos aparentemente contradictorios: Viallon encontró

concentraciones indetectables de PCT analizadas en muestras de LCR de 105 pacientes que presentaron diferentes diagnósticos, incluyendo meningitis vírica y bacteriana¹⁰⁵, mientras que, por otra parte, Shimetani describió que las concentraciones de PCT en pacientes con meningitis bacterianas son más elevadas en suero que en muestras de LCR¹⁰⁴. Nuestro grupo de investigación, en un trabajo previo de tesis doctoral, tampoco encontró utilidad relevante al evaluar PCT en LCR como marcador diagnóstico de meningitis (datos no publicados), con un 16,6% de valores indetectables¹⁶⁸.

La IL-6 ha demostrado ser un marcador útil en el diagnóstico de la sepsis neonatal, tanto medida en suero como en sangre de cordón umbilical, especialmente durante las primeras 48 horas de vida, debido a que presenta un mejor perfil cinético con respecto a la PCT^{169, 170}. Algunos estudios han demostrado que se pueden encontrar concentraciones elevadas de IL-6 en LCR en pacientes con meningitis vírica y bacteriana^{171,172,173}, aunque también se han descrito elevaciones de IL-6 en LCR de pacientes con esquizofrenia, trastorno depresivo mayor, trauma y tras ejercicio intenso^{171,174,175}.

En el presente trabajo de tesis doctoral, la IL-6 fue capaz de apoyar el diagnóstico diferencial de meningitis bacteriana, utilizando un punto de corte de 1418 pg/mL, con una sensibilidad del 95,5% y una especificidad del 77,5%. Los marcadores clásicos estudiados fueron capaces de igualar dicha sensibilidad, pero a expensas de especificidades inferiores: 60,8% con el punto de corte de 48 leucocitos/ μ L, y 64,2% para el punto de corte de 0,545 en el cociente de glucosa LCR/sangre. Cabe destacar, además, que para conseguir dicha capacidad discriminante, estos puntos de corte difieren considerablemente de los puntos establecidos en las guías clínicas (

Tabla 16): 100 leucocitos/ μ L (sensibilidad: 81,8%, especificidad: 68,3%) y cociente 0,4 (sensibilidad 59,1%, especificidad: 89,2%). Por tanto, en este caso, nuestro grupo ha podido describir que los marcadores clásicos mostraron una sensibilidad y especificidad inferiores a la IL-6 en LCR ($p < 0,05$)¹⁸⁰.

El desarrollo experimental de este estudio ha estado sujeto a algunas limitaciones desde el punto de vista analítico. En primer lugar, como se ha mostrado en el diagrama de cajas de la Figura 18, la distribución de las concentraciones de IL-6 en

LCR observadas en el grupo A estaba truncada debido a que no se realizaron diluciones para conseguir resultados que estuvieran por encima de 50000 pg/mL. Esto afectó a un total de 9 de las 26 muestras (34,6%), lo que impidió describir la distribución de resultados superiores al p75 en el grupo A, y conocer el valor máximo de dicha distribución con exactitud. Asimismo, en seis muestras del grupo A (23,1%), el cociente de glucosa LCR/sangre no pudo calcularse. En dos de ellos la razón fue que no se realizó una extracción de sangre al paciente en el momento del ingreso. En los cuatro pacientes restantes, el valor de la glucosa medida en LCR fue inferior al límite de detección de nuestro método (< 2 mg/dL, método de referencia enzimático, con hexokinasa). Por tanto, estos seis pacientes no pudieron ser incluidos en el análisis mediante curva ROC (Figura 19), tres de los cuales presentaban valores de IL-6 superiores a 50000 pg/mL.

Los puntos de corte de IL-6 propuestos por otros autores difieren considerablemente del nuestro (Tabla 37). Taskin demostró que la cuantificación de IL-6 en LCR constituía un marcador temprano para diferenciar entre meningitis bacteriana y meningitis vírica, así como otras patologías que producen irritación de las meninges, describiendo una media de IL-6 de 349,3 pg/mL (desviación estándar: 169,2 pg/mL) en el grupo de meningitis bacteriana⁵⁶. Diez años después, Prasad propuso un punto de corte de IL-6 muy similar, 300 pg/mL, para el diagnóstico de meningitis bacteriana, con una sensibilidad del 87,5% y una especificidad del 53%¹⁷³. Otros autores habían descrito previamente concentraciones de IL-6 en LCR aún más bajas. Por ejemplo, Mukai¹⁷⁶ y Hsieh¹⁷⁷ obtuvieron medianas de 70,37 pg/mL y 45,2 pg/mL respectivamente, mientras que Vázquez¹⁷² refirió un 92,3% de sensibilidad y 100% de especificidad con un punto de corte de 90 pg/mL. En contraposición, Pinto-Junior describió valores más altos, aunque sin alcanzar el punto de corte derivado del presente trabajo de tesis doctoral, con una media de 536 pg/mL en la meningitis bacteriana, pero sin diferencias significativas respecto a la media de 415 pg/mL que describió en la meningitis aséptica¹⁷⁸.

Finalmente, Takahashi obtuvo el punto de corte más elevado descrito en la bibliografía hasta que se publicara el nuestro, 644 pg/mL, con el que encontró un 92,3% de sensibilidad y 89,5% de especificidad¹⁷⁹. Es de destacar que el estudio de Takahashi empleó un ensayo de quimioluminiscencia (Lumipulse f CLEIA,

Fujirebio, Tokyo), con un rango de medida de 0,2 a 1000 pg/mL y una precisión intermedia que presentó un CV intraensayo de 2,14-2,66% (4,37-7,04% interensayo). Este estudio, realizado sobre una muestra de 70 pacientes con tan sólo 13 casos de meningitis bacteriana, mostró una mediana de 6680 pg/mL con un rango intercuartílico de 2136 – 55708 pg/mL.

Sin embargo, en todos estos estudios destacan limitaciones importantes. En primer lugar, el tamaño muestral del grupo de meningitis bacteriana en algunos trabajos fue muy pequeño (entre 6 y 13 pacientes), y además en la mitad de ellos la población estaba truncada por edad, puesto que se limitaron únicamente al estudio de población pediátrica. En segundo lugar, el criterio de clasificación de pacientes fue diferente al nuestro, donde sólo se incluyeron en el grupo de casos, aquellos pacientes en los que existía una confirmación diagnóstica por medio de tests microbiológicos. Sin embargo, en la mayoría de los restantes estudios, no se realizó dicha confirmación e incluso admitieron como casos a pacientes que únicamente presentaban sospecha clínica de la enfermedad de acuerdo a los síntomas. Por último, la mayoría de dichos estudios fueron realizados con técnicas de ELISA, sin demostrar que han sido validados para el diagnóstico in vitro o que tienen trazabilidad a patrones de referencia, de modo que la comparación de resultados con respecto a los obtenidos en nuestro caso con tecnología ECLIA, puede no ser fiable.

Autor	Técnica	n	Punto de corte	S	E
Taskin ⁵⁶	Accucyte ELISA	22 *	349,3 pg/mL	-	-
Prasad ¹⁷³	RayBio ELISA	57 *	300 pg/mL	87,5%	53%
Mukai ¹⁷⁶	Quantikine HS ELISA	6 *	70,3 pg/mL		
Hsieh ¹⁷⁷	R&D Systems ELISA	12 *	45,2 pg/mL		
Vázquez ¹⁷²	Immulite ELISA	13	90 pg/mL	92,3%	100%
Pinto-Junior ¹⁷⁸	R&D Systems ELISA	9	536 pg/mL		
Takahashi ¹⁷⁹	CLIA	13	644 pg/mL	92,3%	89,5%
García ¹⁸⁰	ECLIA	26	1418 pg/mL	95,5%	77,5%

Tabla 37. Comparación de los diferentes estudios realizados con IL-6 cuantificada en LCR en pacientes con meningitis, así como el punto de corte propuesto o, en su defecto, la mediana hallada.

*Estudio restringido a población pediátrica

Los inmunoensayos tienen una variabilidad significativa de resultados según el método empleado (ECLIA, ELISA o radioinmunoensayo), en parte debido a diferencias analíticas (ECLIA presenta mayor sensibilidad y es más reproducible), o porque existan diferencias en la matriz usada para diluir los estándares y muestras de los pacientes. Sin embargo, uno de los principales factores a tener en cuenta es que los anticuerpos monoclonales proporcionados por los diferentes fabricantes pueden reconocer diferentes epítomos o isoformas de IL-6¹⁸¹. Este problema no es exclusivo de este marcador, sino que es inherente a la técnica, de modo que internacionalmente se dedica gran esfuerzo al desarrollo de estándares y patrones de referencia que minimicen esta fuente de variabilidad y aporten la trazabilidad necesaria para conseguir mejor prestaciones analíticas y puntos de corte más robustos para la práctica clínica. Uno de los ejemplos más representativos es la cuantificación de Tiroglobulina (TG), que presenta una gran variabilidad entre métodos. A pesar de que la mayoría de los fabricantes han optado por estandarizar sus ensayos, calibrándolos frente al mismo material de referencia (CRM-457), los resultados pueden diferir hasta en 4 veces su valor¹⁸².

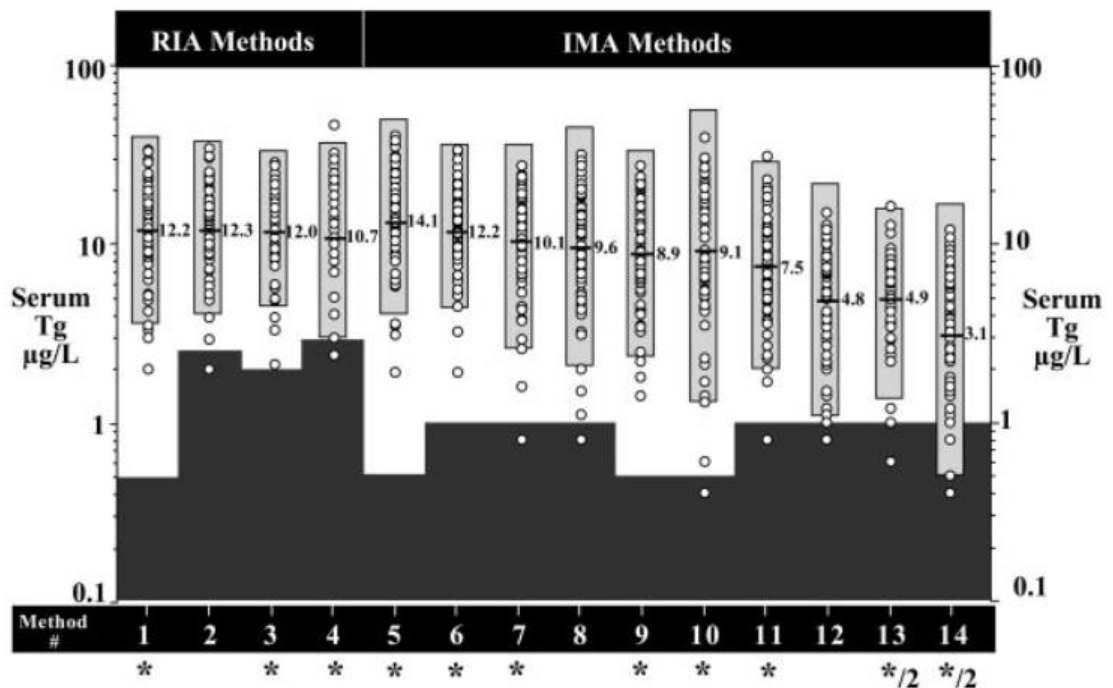


Figura 39. Comparación de los valores obtenidos de TG para un mismo conjunto de 68 muestras de pacientes eutiroides cuantificadas por 14 métodos analíticos diferentes. Las barras sombreadas indican el intervalo de referencia calculado a partir de la media ± 2 desviaciones estándar, en escala logarítmica. La marca horizontal indica el valor medio del rango de referencia de cada método. El sombreado oscuro indica la sensibilidad de cada método¹⁸².

Las diferencias se manifiestan no solo al comparar técnicas diferentes entre sí, sino que también son evidentes incluso entre técnicas que comparten el mismo fundamento de medida, lo cual implica que cada laboratorio debe establecer sus rangos de referencia, y los resultados entre diferentes técnicas no son transferibles. En el caso de la IL-6, nuestro grupo de investigación describió previamente la falta de transferibilidad de resultados entre un método de inmunoensayo originalmente semicuantitativo, que se cuantificaba mediante análisis por imagen digitalizada de la placa de reacción, y el método ECLIA utilizado en el presente trabajo, con importante impacto clínico, ya que fue necesario reasignar nuevos puntos de corte basados en hallazgos clínicos para pacientes neonatales en riesgo de sepsis¹³⁷.

En el presente estudio se encontraron valores atípicos (IL-6 > 50000 pg/mL) en el grupo A (n = 9), pero también dentro del grupo B (n = 3), dos de los cuales pertenecían a muestras cuyo cultivo fue negativo y un tercero no fue realizado. Así mismo en el grupo D una muestra presentó un valor atípico (IL-6 = 49000 pg/mL). Cabría pensar que el origen de estas concentraciones tan elevadas se encontrase fuera del SNC. Sin embargo, las citocinas son moléculas muy grandes e hidrofóbicas, lo cual les impide el paso de la barrera hematoencefálica por difusión simple. No obstante, se ha descrito un transportador activo desde la sangre al cerebro capaz de transportar algunas citocinas, incluida la IL-6, pero se trata de un mecanismo saturable^{183,184}. Por otra parte, la revisión de las historias médicas de estos 15 pacientes, permitió descartar una inflamación sistémica que tuviera una potencial explicación a las concentraciones de IL-6 observadas. De hecho, todos estos pacientes fueron tratados con antibióticos siguiendo las guías clínicas^{12, 185}, ante la sospecha de una posible meningitis bacteriana, a pesar de no tener una orientación diagnóstica clara con base en los marcadores clásicos.

La administración de antibióticos está justificada clínicamente para evitar las complicaciones asociadas a la meningitis y sus posibles desenlaces desfavorables. El último informe de la Comisión Europea sobre el uso y conocimiento de los antibióticos reveló que un tercio de la población europea ha consumido antibióticos en los 12 meses previos a la elaboración de la encuesta, situándose España como el país en el que más antibióticos se consumen, con un 47% de la población¹⁸⁶. A muchos pacientes se les prescriben antibióticos desde atención primaria según criterio clínico; pero hay que

resaltar que, según el informe, hasta un 6% de pacientes en España consumen antibióticos por cuenta propia al detectar algunos síntomas como dolor de cabeza o fiebre, sin que exista necesariamente una prescripción médica.

Esta ingesta de antibióticos tiene una influencia negativa en el cultivo microbiológico. Se ha descrito que los antibióticos pueden provocar la esterilización del LCR si se administran 12 horas antes de que tenga lugar la punción lumbar¹⁸⁷. Este fenómeno puede tener lugar incluso con una única dosis por vía oral, o incluso por vía intramuscular¹⁸⁸, impidiendo el crecimiento del cultivo bacteriano. De esta forma, puede producirse el fenómeno de “meningitis decapitada” (meningitis parcialmente tratada), complicando el diagnóstico clínico y provocando que algunas meningitis bacterianas sean clasificadas incorrectamente como meningitis víricas.

Por otra parte, la administración de antibióticos no implica que vaya a producirse siempre el fenómeno de meningitis decapitada. En primer lugar, puede suceder que el antibiótico no sea eficaz frente a la bacteria causante de la meningitis, ya sea porque exista un fenómeno de resistencia natural o bien adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano, como podría ser la resistencia de todas las bacterias gramnegativas frente a la vancomicina, dado que el gran volumen de la molécula le impide atravesar la pared celular¹⁸⁹. La resistencia adquirida es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana; en los medios hospitalarios una problemática frecuente es la aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina¹⁹⁰. En segundo lugar, los antibióticos administrados deben atravesar la barrera hematoencefálica para conseguir penetrar en el LCR. Algunos antibióticos tienen una penetración muy pobre, como los aminoglicósidos, incluso cuando son administrados por vía intravenosa; mientras que los fármacos de la familia de la penicilina presentan una buena penetración, pero las cefalosporinas pueden presentar una penetración variable¹⁹¹.

En el presente trabajo, seis pacientes (40%) del grupo B (meningitis bacteriana no confirmada), recibieron antibioterapia en las 72 horas previas al ingreso; igualmente, seis pacientes del grupo A recibieron antibioterapia, pero representando un porcentaje inferior: 23,1% Una hipótesis que se puede plantear es que algunos de los pacientes del grupo B, en caso de haberse realizado la prueba de microbiología, posiblemente se

podrían haber clasificado en el grupo A o en el grupo C, según el tipo de patógeno aislado. Tal y como se mostró en la comparación de medianas (Figura 18), no hay diferencias significativas entre ambos grupos al comparar las medianas de glucosa ($p = 0,989$), cociente de glucosa ($p = 0,474$) o la concentración de proteínas ($p = 0,369$), mientras que sí existieron al comparar dichos parámetros con respecto a los grupos C, D y E; en cambio sí que hubo diferencias significativas entre los grupos A y B con el recuento leucocitario, si bien algunos valores por encima del percentil 75 (836 leucocitos/ μL) encajarían en el segundo cuartil del recuento leucocitario del grupo A (229 – 1603 leucocitos/ μL) (Tabla 12). Del mismo modo, la muestra perteneciente al paciente número 4 de dicha

Tabla 15, y que fue tratado con antibióticos, teniendo en cuenta sus características bioquímicas podría ser compatible con una meningitis bacteriana (IL-6 = 49000 pg/mL); sin embargo, fue catalogada por los clínicos como meningitis vírica, y dado que el cultivo no se realizó, tuvo que ser clasificada en el grupo D.

En el grupo D, de hecho, probablemente también se encuentren algunos casos de meningitis bacteriana. Según los datos recogidos en la

Tabla 14, en total 6 de los 42 pacientes fueron tratados con antibióticos y a todos ellos se les realizó un cultivo bacteriano negativo, siendo negativo. Adicionalmente, a 3 de ellos se les realizó pruebas de diagnóstico víricas, siendo igualmente negativas. Cinco de los 6 pacientes mostraron concentraciones discretas de IL-6, mientras que en el restante, la concentración fue de 2676 pg/mL. El recuento leucocitario fue de 62 leucocitos/ μL con un 99% de PMN, presentando valores de glucosa y proteínas en LCR dentro de valores de normalidad. A este paciente se le había administrado una cefalosporina de tercera generación (cefotaxima), el día anterior a su visita a urgencias por parte de atención primaria, ocasionando probablemente un cuadro de meningitis bacteriana decapitada; sin embargo, fue catalogada en su visita a urgencias como una posible meningitis por enterovirus.

Esto supone una limitación en el estudio, ya que los criterios de otros autores al incluir a los pacientes en sus estudios no impusieron criterios tan estrictos como en el presente trabajo de Tesis Doctoral. A la hora de evaluar el poder discriminatorio de la IL-6, la curva ROC se ha enfrentado a pacientes del grupo A frente a algunos individuos

presentes en el grupo B o D que no podemos descartar que podrían haber pertenecido al grupo A, pero al haber sido tratados con antibióticos, podrían haber tenido un resultado negativo en el cultivo. Igualmente, tampoco podemos descartar que el efecto de la antibioterapia previa tenga un impacto reduciendo las concentraciones del marcador de IL-6. Es importante tener presente esta limitación, principalmente porque se trata del escenario de la práctica clínica real, donde la escala de grises, en cuanto a criterios de clasificación diagnóstica, desafortunadamente puede ser más amplia de lo deseable, y porque, además, no todos los estudios frente a los que se han comparado los resultados del presente trabajo tuvieron criterios de selección más laxos. En el estudio de Takahashi¹⁷⁹, entre los criterios de inclusión de los 13 pacientes diagnosticados de meningitis, se admitieron aquellos que, aun teniendo un resultado negativo en el cultivo, habían recibido antibioterapia y presentaban un recuento superior a 500 leucocitos/ μ L. En nuestro estudio, un paciente de estas características pertenecería al grupo B, aunque seguramente la realidad sea que corresponde al grupo A. Sin embargo, en el presente trabajo de Tesis, se ha optado por criterios de inclusión más estrictos para el grupo A, precisamente para situarnos en un escenario quizá más desfavorable pero más parecido a la realidad de las urgencias hospitalarias. De haber aplicado el criterio de Takahashi, tres pacientes habrían pasado del grupo B al grupo A y la especificidad obtenida habría sido más elevada. De hecho, la especificidad encontrada fue del 77,5% frente al 89,5% publicado por Takahashi.

Un objetivo del estudio fue intentar buscar la existencia de correlaciones entre las concentraciones de IL-6 con el desenlace de los pacientes. Dado que el diseño del presente estudio fue retrospectivo, sin que existiera un seguimiento activo, el desenlace de los pacientes se estableció según el criterio clínico en el informe de alta.

En la Figura 20 se puede observar que en el grupo A, las concentraciones de IL-6 alcanzadas por aquellos pacientes que presentaron una buena evolución fueron superiores a aquellos que presentaron secuelas neurológicas, y a su vez, superiores a los pacientes que fallecieron. Este comportamiento del marcador es contrario al que cabría esperar a priori, ya que se partió de la hipótesis que los pacientes con peor pronóstico alcanzarían concentraciones de IL-6 más elevadas. Sin embargo, esta comparación de medianas no alcanzó significación estadística ($p = 0,126$); además, hay que tener en

consideración que el número de exitus fue relativamente bajo (exitus por meningitis n = 4; exitus por otras causas n = 2).

La evaluación del valor pronóstico de las citoquinas en enfermedades infecciosas ha despertado el interés de varios autores. En el caso concreto de IL-6, a nivel plasmático, aunque no existen metaanálisis, algunos estudios han evaluado el marcador tras una sepsis, indicando que posee una correlación relativamente buena con la gravedad y en cierta medida, también con el pronóstico de la enfermedad¹³⁵, siendo considerados los niveles plasmáticos elevados de forma persistente por encima de 1000 pg/mL como una indicación de progresión desfavorable o de un desenlace letal¹⁹².

En LCR, el número de estudios es más limitado, y por tanto la utilidad pronóstica de IL-6 ha sido poco estudiada. Takahashi¹⁷⁹ evaluó la correlación de las concentraciones de IL-6 con respecto al porcentaje de pacientes que presentaron buena evolución en cada uno de los cuartiles, encontrando que las concentraciones más elevadas de IL-6 se asociaban con porcentajes inferiores de buena recuperación, aunque sin significación estadística. Estos resultados se encuentran en conflicto con los observados por Misra et al¹⁹³, que evaluó las concentraciones de varias interleukinas, incluyendo IL-6, para evaluar el pronóstico de 16 pacientes que presentaban meningitis tuberculosa de forma prospectiva, concluyendo que, las concentraciones en LCR no guardan correlación con la severidad ni el pronóstico del paciente. Finalmente, Dan Dano et al¹⁹⁴, en un estudio prospectivo realizado con 85 pacientes pediátricos con meningitis bacteriana (con cultivo positivo), encontraron que las concentraciones de IL-6 en pacientes que fallecieron fueron más elevadas que los pacientes que sobrevivieron, con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$). Hasta la fecha, dicho estudio es el que mayor número de pacientes abarca para la evaluación de IL-6 como marcador de pronóstico; si bien presenta varias limitaciones, como restringirse únicamente a población pediátrica, emplear tecnología ELISA (Thermo Scientific), y haberse realizado durante una epidemia de meningitis en Nigeria, país que en 2013, la tasa de mortalidad infantil (<5 años) fue de 117 fallecimientos por cada 1000 nacidos vivos según los informes publicados por la OMS¹⁹⁵. Todo ello invita a pensar que no existen suficientes trabajos que puedan avalar la utilidad de IL-6 como marcador pronóstico de la meningitis bacteriana o como marcador indicativo de letalidad. Los trabajos que existen en la bibliografía presentan varias limitaciones y muestran resultados contradictorios, siendo

difícil alcanzar un consenso en ausencia de estudios más amplios realizados con mayor número de pacientes y evaluando múltiples variables clínicas.

2.- MARCADORES EN LP

Diversos estudios poblacionales sitúan la incidencia anual de NAC entre el 5 y el 11% de la población adulta, si bien la incidencia es mayor en pacientes varones y en pacientes de edad avanzada. Sin embargo, el número de ingresos por NAC desciende a cifras entre 1,1 y 4 por cada 1000 pacientes¹⁹⁶.

A diferencia de la meningitis, el diagnóstico de la neumonía, de acuerdo con las guías clínicas, se basa en los síntomas mostrados por el paciente (tos, fiebre, dolor pleurítico), y especialmente en las pruebas de imagen (radiografía torácica), en las que se apreciará la infección de pulmonar y se pondrá de manifiesto la localización, extensión y las complicaciones añadidas, como la presencia de un derrame pleural¹⁹⁷. La evidencia de un infiltrado radiológico, junto con las manifestaciones clínicas es el patrón oro para establecer el diagnóstico, si bien, en los casos más leves de NAC, el infiltrado será mínimo o inapreciable.

No obstante, en pacientes que se encuentran afectados por otras enfermedades concomitantes, como sida o enfisema, la radiografía puede ser difícil de interpretar. Por otra parte, la presencia de un derrame pleural puede originarse por múltiples causas, siendo la más frecuente la ICC¹⁹⁸. Otras causas frecuentes son patologías no infecciosas, como la cirrosis hepática, neoplasias, o incluso otras situaciones clínicas que afecten al aparato respiratorio, como el tromboembolismo pulmonar¹⁹⁹.

Las guías clínicas aconsejan practicar la toracocentesis, ya que el desarrollo de empiema es uno de los principales factores asociados a mala evolución de la NAC²⁰⁰. El estudio microbiológico del líquido tiene interés para establecer el diagnóstico etiológico, aunque solo se consigue alcanzar en el 50% de los casos¹⁹⁷; el estudio bioquímico del LP queda relegado al apoyo del diagnóstico en aquellos casos en los que la sintomatología de la NAC no está presente, o bien se presentan enfermedades concomitantes.

2.1.- IL-6 EN LP

La LDH se ha postulado como uno de los marcadores más relevantes para establecer el diagnóstico bioquímico, con puntos de corte a partir de 1000 UI/L⁶³. Sin embargo, este parámetro tiene limitaciones a la hora de poder aplicarse debido a la variación de las concentraciones pleurales causado por recuentos elevados de hematíes en LP. Se han propuesto fórmulas correctoras que corrigen la LDH pleural, como la de Porcel et al, que propone sustraer 1,2 UI/L por cada 1000 hematíes presentes por microlitro⁷⁶. En nuestro estudio, en el grupo NAC, la mediana del recuento celular fue de 8250 hematíes/microlitro (intervalo intercuartílico: 2787 – 31500), lo cual implicaría que en un número importante de muestras habría que aplicar criterios correctores. Si se aplicara la fórmula propuesta por Porcel, habría que sustraer al menos 44 UI/L a todas las muestras pertenecientes al último cuartil. La mediana de concentraciones hallada en el grupo NAC sin utilizar ninguna corrección fue de 835 UI/L (intervalo: 326 – 1472), que se encuentra por debajo del punto de corte propuesto por las guías de 1000 UI/L, y que posiblemente sería inferior en las muestras hemáticas, lo cual limita la utilidad de este marcador en la población a estudio.

A pesar de ser frecuente hallar recuentos leucocitarios superiores a 1000 células/ μ L, con predominio de PMN neutrófilos en los derrames paraneumónicos, su utilidad diagnóstica en NAC es limitada²⁰¹. Este patrón es común también en otros procesos de inflamación aguda como pancreatitis, tromboembolismo pulmonar, absceso subfrénico y tuberculosis en fase inicial. El estudio citológico tiene interés en la práctica clínica para demostrar la presencia de células malignas. Se ha reportado que el estudio citológico contribuye al diagnóstico de entre un 40 y un 87% de los derrames malignos^{198,202}.

La IL-6 ha mostrado capacidad discriminatoria para diferenciar entre exudado y trasudado (Figura 30), permitiendo realizar una reclasificación de líquidos cuando no se dispone de suficiente información, o bien los criterios clasificatorios son contradictorios. Los marcadores clásicos, aplicados a través de los criterios de Light,

son capaces de detectar el 98% de los exudados, pero clasifican erróneamente el 25% de los trasudados como exudados⁷⁹. Por ese motivo, son numerosos los estudios que se han desarrollado para tratar de mejorar el índice de clasificación de los líquidos, proponiéndose criterios alternativos^{71,72}. Uno de dichos estudios, el elaborado por Yokoyama et al²⁰³ en 1992, fue uno de los primeros en evaluar el comportamiento de IL-6 en LP, reportando concentraciones significativamente más altas en exudados respecto a trasudados y, a la vez, concentraciones más elevadas de IL-6 en LP respecto a plasma, motivo por el que describió la producción local de la interleukina. Más tarde, Xirouchaki et al²⁰⁴, con un número pequeño de pacientes (n = 11), destacó la capacidad de IL-6 para diferenciar entre exudado y trasudado, y permitió diferenciar los grupos de pacientes en función del valor de su mediana, empleando una técnica ELISA (Amersham Biotrak ELISA). En este estudio se establecieron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con NAC (14968 ± 6903 pg/mL) respecto a otras patologías, como tuberculosis (24699 ± 8751 pg/mL) o neoplasia (4291 ± 2451 pg/mL), siendo las concentraciones entre 8 y 20 veces superiores a las halladas en plasma para los mismos pacientes.

En el presente trabajo de tesis se comparó la sensibilidad y especificidad del recuento leucocitario y la medición de LDH, aplicando los puntos de corte propuestos en las guías clínicas, con la sensibilidad y especificidad que parece aportar la IL-6 (Tabla 26). De esta forma, el punto de corte de LDH de 1000 UI/L ofrece una sensibilidad alta (93,3%), pero una baja especificidad (35,1%). Para igualar esa cifra de especificidad, sería necesario un recuento leucocitario de 4650 leucocitos/ μ L, el cual alcanza sensibilidad superior (57,1%). Sin embargo, un punto de corte de IL-6 de 45850 pg/mL sigue ofreciendo la misma especificidad (93,3%), pero muestra la sensibilidad más elevada con respecto a los demás marcadores, 67,5%.

De forma análoga, partiendo del punto de corte de 10000 leucocitos/ μ L propuesto por las guías clínicas, obtenemos la cifra de especificidad más elevada (98,1%), pero manteniendo una sensibilidad bastante pobre (32,5%). Para igualar esa especificidad, con la LDH sería necesario alcanzar un punto de corte de 1530 UI/L, y sigue mostrando una sensibilidad bastante baja (23,4%), mientras que un punto de corte de IL-6 de 78686 pg/mL arroja una sensibilidad del 61%.

Estos resultados son coherentes con los publicados por San José et al²⁰⁵, que analizaron la concentración de IL-6 en LP de 34 pacientes con NAC, empleando un método de quimioluminiscencia (IMMULITE 2000, Siemens). En dicho estudio, se encontró una mediana de 32023 pg/mL (percentil 5-95: 225 – 269814 pg/mL), con diferencias significativas entre los derrames de origen neoplásico y otros trasudados. Así mismo, se propuso un punto de corte de 77363 pg/mL, con alta especificidad (97,4%), pero una sensibilidad discreta (38,2%), aún más baja que la mostrada por el recuento leucocitario (5660 leucocitos/ μ L, especificidad 92,5%, sensibilidad 57,1%) o la LDH (350 UI/L, especificidad 61,3%, sensibilidad 71,4%).

Este comportamiento de la IL-6 en LP, mostrando en ambos estudios alta especificidad y baja sensibilidad, es contrario con el comportamiento mostrado por el propio marcador al ser cuantificado en LCR, donde destacaba su alta sensibilidad por encima de la especificidad. Además, también es contradictorio con otros estudios publicados, en los que el marcador al ser cuantificado en LP muestra mayor sensibilidad que especificidad. Uno de dichos estudios fue el de Wong et al.²⁰⁶ en el que se propuso un punto de corte de 4000 pg/mL de IL-6 en LP para obtener una sensibilidad del 90,6% y una especificidad de 76,5%, si bien dicho estudio está enfocado al diagnóstico de tuberculosis pulmonar sobre un total de 32 pacientes y no al estudio de NAC.

Las diferencias en cuanto a la capacidad diagnóstica de ADA e IL-6 también fueron puestas de manifiesto por Daniil et al²⁰⁷, en cuyo estudio, realizado sobre 72 pacientes (15 con NAC), la IL-6 mostró una mediana de 238,19 pg/mL (intervalo intercuartílico: 98 – 453,15 pg/mL), con un AUC de 0,82 (IC 95%: 0,72 – 0,92); mientras que ADA mostró una mediana de 31,47 UI/L (intervalo intercuartílico: 16,18 – 149,7) y una AUC de 0,70 (IC 95%: 0,55 – 0,84), aunque no se valoró la significación estadística entre ambos parámetros.

Al comparar los puntos de corte o las medianas de IL-6 reportadas en los diferentes estudios en LP (Tabla 38), no se observan unas diferencias tan marcadas como sucedía en el metanálisis de LCR (Tabla 37). Esto podría deberse a varias razones. En primer lugar, el número de estudios publicados con IL-6 cuantificado en LP es más limitado; y en segundo lugar, los métodos ELISA empleados pertenecen a distintos fabricantes. Finalmente, es de destacar que el estudio realizado por San José et

al²⁰⁵. es el único de los publicados hasta la fecha en el que se ha empleado una técnica de quimioluminiscencia automatizada (IL-6 cuantificada en un sistema IMMULITE-2000), y es el que más se asemeja desde el punto de vista metodológico al ECLIA. De hecho, tanto las medianas como los puntos de corte hallados por ambos métodos son los que guardan mayor similitud en cuanto a orden de magnitud, sensibilidad y especificidad.

Autor	Técnica	n	Punto de corte o mediana	S	E
San José ²⁰⁵	Siemens quimioluminiscencia	34	77363 pg/mL	38,2%	97,4%
Wong ²⁰⁶	ELISA ¥	32	4000 pg/mL §	90,6%	76,5%
Xirouchaki ²⁰⁴	Biotrak ELISA	11	14968 pg/mL *		
Daniil ²⁰⁷	Biosurce ELISA	15	238,19 pg/mL *		
Marie ²⁰⁸	ELISA ¥	24	76000 pg/mL *		
García [^]	Roche ECLIA	80	78686 pg/mL	61,0%	98,1%

Tabla 38. Comparación de los estudios publicados en la bibliografía, mostrando la técnica empleada, el número de pacientes estudiados con neumonía, el punto de corte propuesto y la sensibilidad y especificidad mostrada. * El estudio no refleja un punto de corte; el valor mostrado corresponde con la mediana. ¥ No se ha especificado el fabricante del reactivo empleado. § El punto de corte mostrado corresponde con tuberculosis en lugar de NAC. ^Datos no publicados

A pesar de todo lo anteriormente expuesto, es necesario volver a resaltar que, a diferencia de la meningitis, el diagnóstico de la neumonía es esencialmente clínico, y el patrón de oro es la radiografía del paciente¹⁹⁷. La mayor parte de los casos de NAC son leves y remiten con reposo y antibioterapia, sin que el paciente precise la realización de una toracocentesis y sin necesidad de ingresar al paciente. El diseño del presente estudio fue de carácter retrospectivo y sobre muestras de pacientes a los que se les practicó una toracocentesis en los servicios de urgencias, neumonía o cirugía torácica. Este diseño limita la utilidad de aplicar todos los marcadores bioquímicos estudiados sobre la población general de pacientes NAC, y por lo tanto, las conclusiones extraídas sobre los marcadores bioquímicos en primer lugar quedan limitadas al grupo de pacientes NAC que tengan que ser derivados a un centro hospitalario. En segundo lugar, a pesar de que las conclusiones del estudio parecen indicar que el empleo de IL-6 es favorable para el diagnóstico de este tipo de pacientes sobre otros marcadores, hay que tener presente que su aportación real en el diagnóstico de un paciente en la práctica clínica quedaría relegado a un segundo plano. La utilidad de IL-6 sólo tendría interés en aquellos casos

complejos, en los que la sintomatología sea difusa, en los que el líquido pleural no se pueda diferenciar correctamente entre trasudado o exudado, y el empleo de los marcadores tradicionales aporte escasa información, no esclarezca el origen del derrame, o su interpretación sea confusa. En ese contexto, es donde realmente el marcador podría aportar información de interés, contribuyendo a agilizar el proceso diagnóstico. No se trata de un marcador, pues, que vaya a modificar ostensiblemente la práctica actual, pero puede resultar de gran utilidad como herramienta complementaria en determinadas situaciones.

A pesar de que el diagnóstico de NAC se establece de forma clínica, el manejo clínico de los pacientes en muchas ocasiones depende de la experiencia del médico responsable, que puede infravalorar o sobrestimar la gravedad del proceso. Además, es necesario identificar precozmente a aquellos pacientes cuyo estado pueda agravarse con rapidez. Un retraso en la identificación de los pacientes graves supone retrasar el traslado del paciente a la UCI y por tanto aplicar al paciente medidas y cuidados por debajo de sus necesidades, incrementándose el riesgo de mortalidad²⁰⁹. Por ese motivo se han desarrollado varias escalas pronósticas de gravedad, capaces de clasificar a los pacientes en distintos grupos de riesgo que establecen la probabilidad de fallecer en un seguimiento a 30 días.

Una de las escalas más completa y útil de todas las empleadas es la PSI/FINE, que evalúa más de 20 ítems, como factores demográficos del paciente, comorbilidades, signos vitales, pruebas de laboratorio y radiológicas⁵¹. Uno de los parámetros más influyentes en la escala FINE es la edad, asignándose tantos puntos como años de vida tenga el paciente; de tal forma que un paciente varón de 91 años, quedaría englobado en el grupo de riesgo IV. La mediana de los pacientes NAC fue de 59 años, con un IIC de 46 a 73 años (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), lo que significa que pocos pacientes fueron clasificados en los estadios de riesgo altos únicamente por criterio de edad. Por otra parte, las diferencias observadas con respecto al grupo de pacientes con ICA (mediana 80 años; IIC 73 – 85 años), pueden atribuirse a la alta prevalencia que presenta la ICA en la población envejecida²¹⁰.

A pesar de que la escala FINE es ampliamente conocida y robusta, es poco empleada en la práctica clínica debido a la dificultad que implica recoger todos los datos

necesarios para poder establecer la clasificación del paciente. Por ese motivo, se han intentado evaluar otras escalas, que sean más fáciles de aplicar, como la escala CURB, que posteriormente fue modificada para añadir el parámetro de la edad (CURB-65)⁵². Sin embargo, estas escalas tienen limitaciones en sus capacidades predictivas, y la clasificación que ofrecen no siempre es perfecta; además, la escala CURB-65 no ha sido validada en pacientes de más de 65 años de edad⁵². Se han propuesto en los últimos años nuevas escalas predictivas de gravedad, como los criterios de la ATS/IDSA¹⁹⁷ (American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America), la escala SMART-COP²¹¹, la escala SCAP²¹² (Severity Community Acquired Pneumonia) y la escala PIRO²¹³.

Al estratificar a los pacientes NAC del presente estudio en grupos de riesgo y comparar las medianas de IL-6 obtenidas en cada uno de los grupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto en la escala FINE (Tabla 1) como en la CURB-65. Sin embargo, estos resultados difieren de los publicados por otros autores al estudiar el valor predictivo de las concentraciones plasmáticas de IL-6.

Uno de los trabajos publicados más relevantes en este campo deriva del estudio CAPNETZ, en el que se estudiaron las concentraciones plasmáticas de IL-6 de 1000 pacientes; a pesar de encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con una puntuación CURB-65 alta (3 – 4) respecto a una puntuación baja (1 – 2), el valor predictivo del marcador fue inferior al de la propia escala²¹⁴. De forma similar, Andrijevic et al.²¹⁵ en un estudio prospectivo con 101 pacientes, demostró que las concentraciones plasmáticas de IL-6 guardan correlación con las escalas pronósticas de neumonía PSI y CURB-65, así como la escala MEWS (Modified Early Warning Score), que se emplea en los servicios de urgencias por su valor predictivo de mortalidad²¹⁶. En la misma línea, Menéndez et al.²¹⁷ en un estudio prospectivo realizado en 453 pacientes confirmaron la capacidad de PCR e IL-6 para predecir de forma independiente la mortalidad a 30 días de los pacientes NAC. Kellum²¹⁸ et al. sugirieron que las concentraciones de citocinas circulantes en respuesta a la neumonía pueden ser muy diversas, y que el perfil que más se asocia con un desenlace desfavorable tiene lugar cuando se produce una elevación marcada de las citocinas proinflamatorias (IL-6) y las anti-inflamatorias (IL-10). En esta misma línea, se ha descrito que los pacientes que clínicamente superaron un episodio de NAC, pero que presentaron valores elevados

de IL-6, presentaron mayor riesgo de mortalidad en un periodo de seguimiento de 1 año por otras causas (cáncer, fallo renal o enfermedades cardiovasculares), posiblemente por su implicación en procesos inflamatorios subclínicos²¹⁹.

A priori la ausencia de correlación de IL-6 que se observa en nuestro estudio podría justificarse porque los grupos de mayor riesgo evaluados por ambas escalas son los que integran el menor número de pacientes (n = 23 FINE, n = 17 CURB-65). Además, la mayoría de dichos pacientes fueron tratados con antibióticos previamente a la punción, lo cual podría justificar concentraciones de IL-6 más discretas con respecto a los grupos de pacientes con riesgo bajo o intermedio. Por otra parte, son numerosos los trabajos que han correlacionado las escalas predictivas con concentraciones de IL-6 cuantificadas en plasma; recientemente incluso se han publicado trabajos en los que se ha valorado la utilidad de IL-6 para predecir la gravedad y el riesgo de mortalidad en diferentes escenarios, como por ejemplo casos de neumonía asociada a AR²²⁰, o pacientes SIDA con neumonía fúngica por *Pneumocystis*²²¹.

A pesar de los numerosos trabajos que apoyan la utilidad de IL-6 plasmática como marcador pronóstico, no hay ningún estudio que lo haya evaluado hasta ahora en LP. Cabría formular la hipótesis de que el marcador se comportase de forma análoga tanto en plasma como en LP desde el punto de vista del pronóstico del paciente. Sin embargo, los resultados obtenidos parecen indicar que no hay correlación con respecto a las escalas empleadas en la práctica clínica.

2.2.- MR-proADM EN LP

Desde el descubrimiento inicial del péptido de la AM en 1993¹³⁸, la comunidad científica ha volcado grandes esfuerzos en describir los mecanismos de acción de dicha molécula, sus implicaciones, y como objetivo de nuevas estrategias terapéuticas. La AM es un potente vasodilatador, y su expresión tiene lugar en células de la médula adrenal, pero también en otros tejidos, como el corazón o los pulmones. Se han descrito elevaciones de AM con frecuencia en pacientes con diversas patologías relacionadas con el aparato cardiorrespiratorio, como EPOC²²², infarto de miocardio²²³, insuficiencia cardíaca²²⁴, neumonía¹⁵³ y sepsis²²⁵. Sin embargo, en la práctica clínica, resulta más

sencillo de cuantificar MR-proADM, debido a que presenta mayor estabilidad y se secreta de forma equimolecular a la AM¹⁴⁶.

En el momento de evaluar los métodos de análisis de MR-proADM se observaron diferencias metodológicas importantes entre la técnica ELISA y el sistema Kryptor, que emplea la tecnología TRACE. Además, la técnica ELISA no tenía suficiente sensibilidad para diferenciar las concentraciones de analito en las muestras de LP analizadas. Existen varias posibles explicaciones para este diferente comportamiento. La falta de estandarización de los métodos de ELISA es una limitación ampliamente conocida, donde diferencias en el diseño de los anticuerpos empleados para tratar de identificar el analito de interés pueden implicar que no se estén detectando epítomos equivalentes de la molécula, con la consiguiente incoherencia de los resultados obtenidos. Por otra parte, la curva de calibrado del método ELISA abarcaba un rango muy importante de concentraciones, probablemente más adecuado para concentraciones mucho mayores de MRproADM de las que presentaron las muestras analizadas, que fueron mayoritariamente indetectables por dicho método.

En este estudio, se ha validado por primera vez la posibilidad de cuantificar MR-proADM en LP con el autoanizador Kryptor, mediante un experimento de recuperación donde además se ha verificado similares prestaciones de imprecisión que en muestras de plasma. Sin embargo, se observó que la MR-proADM parece que no es capaz aportar un valor añadido al diagnóstico de NAC. Las medianas de las concentraciones cuantificadas en LP son similares al resto de patologías estudiadas, como neoplasia o ICA (Figura 32), y el AUC no es significativa (

Figura **35**). Estos hallazgos son coherentes con los publicados por otros autores, donde el MR-proADM cuantificado en plasma no es considerado un marcador útil para el diagnóstico de NAC^{226,227,228}, a pesar de que sí se ha descrito su utilidad como marcador de sepsis^{148, 229, 230}.

Desde el punto de vista del pronóstico, al comparar las medianas de MR-proADM de los distintos grupos asignados por las escalas pronósticas FINE (Figura 33) y CURB-65 (Figura 34), se observa que existe una relación entre las concentraciones halladas y el grupo de riesgo del paciente, presentando los pacientes con peor pronóstico concentraciones más elevadas, aunque sin observarse diferencias estadísticas. Esta

misma tendencia de la MR-proADM con respecto a las escalas pronósticas ha sido corroborada por otros autores en plasma, mostrando diferencias al comparar los pacientes de riesgo bajo (FINE I-III) con respecto a los de riesgo alto (IV-V)²³¹.

Cuando se comparó la mediana entre los pacientes atendiendo a su desenlace, aquellos que causaron exitus presentaron una mediana de MR-proADM más elevada (

Grupo	n	Mínimo	P25	Mediana	P75	Máximo	p
NAC	Alta	66	0,050	0,118	0,518	0,981	0,669
	Exitus	5	0,050	0,050	0,126	2,466	
ICA	Alta	36	0,050	0,060	0,618	1,977	0,098
	Exitus	7	0,373	0,966	1,559	2,305	
NEO	Alta	27	0,050	0,075	0,398	0,762	0,017
	Exitus	21	0,050	0,293	0,918	1,698	

Figura 38), aunque sin alcanzar significación estadística ($p = 0,07$).

En la IL-6, en cambio, la situación observada es diferente a MR-proADM: los grupos de más riesgo presentaron concentraciones bajas del marcador. Son varios los trabajos publicados en la bibliografía que han estudiado el papel que juegan las concentraciones plasmáticas de MR-proADM respecto al desenlace de los pacientes con neumonía. Gordo-Remartínez et al²³² estudiaron a través de análisis ROC la capacidad del marcador para predecir efectos desfavorables (AUC: 0,72; IC95%: 0,63-0,81), que fue similar a la mostrada por la escala FINE (AUC: 0,74; IC95%: 0,64 – 0,85) y a NT-proBNP (AUC: 0,73; IC95%: 0,65 – 0,82). De forma análoga, mostraron la misma AUC en la curva ROC para predecir mortalidad a 90 días (AUC FINE: 0,89; IC95%: 0,82 – 0,96. AUC MR-proADM: 0,88; IC95%: 0,79 – 0,98).

De forma similar, España et al²³³ evaluaron el marcador en un estudio prospectivo con 491 pacientes, en el cual el 40,9% presentaron complicaciones relacionadas con la NAC (fallo respiratorio, insuficiencia renal aguda, shock, ingreso en UCI, ventilación mecánica, fallo terapéutico o readmisión de un paciente tras ser dado de alta). Al comparar en una curva ROC la capacidad de los marcadores bioquímicos con respecto a las escalas para predecir eventos desfavorables, MR-proADM obtuvo una AUC de 0,835 (IC95%: 0,798 – 0,871), valor similar al obtenido por la escala FINE: 0,829 (IC95%: 0,790 – 0,867), mientras que la escala CURB-65 presentó un AUC más bajo (0,786), y otros marcadores relacionados con la sepsis mostraron áreas más discretas (PCT: 0,667; PCR: 0,535).

Estos dos trabajos son las últimas publicaciones en la comunidad científica respecto a la implicación pronóstica del marcador, pero no son los únicos. Cavallazzi et al²³⁴. recientemente realizó una revisión sobre 12 artículos publicados entre 2006 y 2013 y en los que se cuantificó MR-proADM en pacientes adultos. Se observó que en todos los estudios realizados en pacientes con NAC, los niveles elevados de MR-proADM se asocian con una mayor probabilidad de un desenlace desfavorable (complicaciones) o incluso la muerte a corto plazo (< 30 días). La conclusión es que al combinar el uso de MR-proADM conjuntamente con una escala pronóstico (CURB-65), mejora el valor predictivo a la hora de identificar a los pacientes que puedan presentar complicaciones. Por el contrario, en la valoración de los pacientes a medio plazo (> 30 días), los resultados, a pesar de no ser tan robustos, sugieren que MR-proADM puede tener utilidad para predecir el pronóstico de estos pacientes.

Albrich et al. formularon como hipótesis que MR-proADM podría tener un valor clínico si se cuantifica durante el triaje de los pacientes para así detectar aquellos que tuvieran bajo riesgo, y de esa forma ser dados de alta de forma temprana, disminuyendo el número de días de ingreso hospitalario²³⁵. Para ello se realizó un ensayo clínico intervencional en el que se reclutaron 313 pacientes que mostraron sintomatología compatible con una infección de las vías respiratorias bajas y a los que se les determinó la concentración de MR-proADM al ingreso, tercer y sexto día de ingreso. Se asignó un grupo control, en el que los pacientes fueron tratados según los protocolos establecidos, sin que el personal médico o de enfermería conociese las concentraciones de MR-proADM del paciente, y un segundo grupo, en el cual las concentraciones eran conocidas y se pudieran tomar decisiones clínicas en base a ellas. La estancia media de los pacientes en el segundo grupo fue inferior (6,3 días) con respecto al grupo control (6,8 días), y no se observaron diferencias entre ambos grupos en cuanto a desenlaces adversos.

Existen varios motivos que permitirían explicar por qué el MR-proADM en el presente estudio, no ha llegado a mostrar diferenciación significativa:

a) el tipo de pacientes que integran el estudio

La gran mayoría de los trabajos citados en la bibliografía se han realizado de forma prospectiva, reclutando grupos numerosos de pacientes con patología NAC y

realizando un seguimiento clínico. Por el contrario, en el presente trabajo, la evaluación del marcador se ha realizado incluyendo a todos los pacientes, independientemente de su patología. En el caso de los pacientes NAC que fallecieron ($n = 7$), debido a insuficiente cantidad de muestra, sólo se pudo realizar la cuantificación de MR-proADM en cinco de ellos, no constituyendo por tanto un grupo lo suficientemente amplio como para realizar un análisis estadístico.

b) características técnicas: técnica empleada y tipo de espécimen empleado.

En cuanto a las características técnicas, la metodología más frecuentemente reportada en la literatura para cuantificar MR-proADM es la tecnología TRACE, en un autoanalizador Compact Plus. Dicho método es también el empleado en el presente trabajo, por lo que, a diferencia del escenario de la IL-6, se podría descartar que la diferencia de métodos empleados influya de forma relevante a la hora de comparar resultados entre los diferentes estudios.

Con respecto al espécimen empleado, en el presente trabajo se ha empleado LP, mientras que en el resto de estudios el espécimen empleado es plasma. Este hecho implica que la recogida de muestras se realiza también en un contenedor diferente. El fabricante recomienda emplear como espécimen una muestra de plasma recogida en un contenedor recubierto con EDTA tripotásico; sin embargo, la recogida de LP habitualmente se realiza en otro tipo de contenedor. En los protocolos establecidos en el HUCA, la recogida de LP se realiza en tubos recubiertos de heparina sódica, modificándose por tanto la matriz del analito, e introduciéndose una posible variable de confusión. Por ese motivo, se realizó un estudio de recuperación de MR-proADM, en el que se observó que se mantenía la linealidad a diferentes concentraciones (

Figura 27).

Hay que destacar que las concentraciones observadas de MR-proADM fueron más elevadas en los pacientes padecían ICA y fallecieron con respecto a aquellos que sobrevivieron (Figura 38), sin alcanzar significación estadística. Esta tendencia también se observó en los pacientes con neoplasia, alcanzándose significación estadística ($p = 0,017$). Se ha demostrado que mayores concentraciones de AM se correlacionan con la aparición de enfermedades que implican riesgo cardiovascular, como infarto de

miocardio, hipertensión pulmonar e ICA²³⁶. En cuanto al pronóstico de los pacientes, se han estudiado las elevaciones plasmáticas de MR-proADM, considerándose como un predictor independiente de mortalidad^{237,238,239}. Hasta la fecha, el único artículo publicado que ha cuantificado MR-proADM en LP (Kryptor, Brahms) es el de Porcel et al¹⁵⁷, en el cual se valoró la capacidad del marcador para diagnosticar ICA, presentando una AUC de 0,62, siendo bastante más discreta que otros péptidos natriuréticos, como NT-proBNP (0,935) y región media del péptido natriurético atrial (0,915).

Por otra parte, se ha demostrado la implicación de los péptidos vasoactivos, como MR-proADM en la angiogénesis y, por tanto, en la progresión de los tumores, por medio de la activación específica de los receptores tipo calcitonina²⁴⁰. Se ha detectado la expresión de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de AM en un número importante de líneas celulares tumorales²⁴¹, incluyendo, entre otras, carcinomas de pulmón de células pequeñas y no pequeñas, células neoplásicas mamarias, del sistema nervioso (glioblastoma, neuroblastoma), ovario, próstata, suprarrenales, pancreáticas, renales, vejiga y colon²⁴².

Aunque no se han realizado hasta la fecha estudios pronóstico de MR-proADM en LP, en la mayoría de tumores, es posible correlacionar las concentraciones plasmáticas de AM con la progresión del tumor, metástasis o el grado de malignidad^{243,244}. Algunos estudios, en contraposición, sugieren que en determinados tipos de cáncer, como el ovárico, la expresión de AM se asocia con desenlaces favorables²⁴⁵; sin embargo, la mayoría de estudios sugieren que la expresión de RNAm o la cuantificación concentraciones plasmáticas elevadas se asocian con mayor invasión, progresión y peor pronóstico para el paciente^{242,246,247}. Se ha valorado así mismo el marcador como predictor de cáncer en un estudio prospectivo con 4000 pacientes y seguimiento durante 15 años, asociándose concentraciones más elevadas de MR-proADM con un mayor riesgo de padecer neoplasia, especialmente en varones jóvenes²⁴⁸.

CONCLUSIONES

- La IL-6 es un marcador que presenta utilidad diagnóstica en las enfermedades infecciosas. Puede emplearse en el diagnóstico de la meningitis bacteriana y de la NAC, cuantificada en LCR y LP conjuntamente con el resto de marcadores clásicos. Adicionalmente, puede emplearse en LP como criterio discriminatorio entre exudado y trasudado.
- La IL-6 cuantificada por la tecnología ECLIA en LCR puede proporcionar resultados en poco tiempo (<30 minutos), lo cual le concede un valor añadido en la práctica clínica. Sin embargo, los puntos de corte pueden diferir notablemente de los propuestos por otros autores debido a la diferencia de metodología.
- Con respecto a la utilidad pronóstica, la IL-6 ha mostrado un papel discreto con respecto a otros marcadores en la evaluación del riesgo de los pacientes, si bien en el presente trabajo el número de sucesos adversos resultó escaso para realizar un análisis estadístico.
- La cuantificación del MR-proADM en LP no es útil para establecer el diagnóstico de NAC. A pesar de mostrar correlación con las escalas pronósticas FINE y CURB-65, la baja proporción de exitus, impidió su correcta valoración como marcador de mortalidad.
- Se han hallado concentraciones de MR-proADM más elevadas en LP de pacientes que padecieron neoplasia y fallecieron con respecto a los pacientes que sobrevivieron, mostrando significación estadística. Es la primera vez que se describe en LP, constituyendo un hallazgo interesante para el estudio de las enfermedades neoplásicas.

BIBLIOGRAFÍA

¹ García San Miguel J, Pumarola A. En: Rozman C. Medicina Interna, t II, sección 17, "Enfermedades Infecciosas". Barcelona, DOYMA, 1992.

² Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willats S, De Medonca A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assesment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intens Care Med* 1996;22:707-10

³ Opal SM, Huber CE. Bench-to-bedside review: Toll-like receptors and their role in septic shock. *Crit Care* 2002;6:125-36.

⁴ Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest* 2003;124:1103-15.

⁵ Redl H, Schlag G, Togel E, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: relationship to cytokines and neopterin. *Crit Care Med* 2000;28:3659-63.

⁶ Whang KT, Vath SD, Becker KL, Snider RH, Nylén ES, Müller B et al. Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. *Shock* 2000;14:73-8.

⁷ Nylén ES, Whang KT, Snider RH, Jr., Steinwald PM, White JC, Becker KL. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit Care Med* 1998;26:1001-6.

⁸ Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340:448-54.

⁹ Woolhouse ME, Gowtage-Sequeria S. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(12):1842-7.

¹⁰ Edberg SC. Global Infectious Diseases and Epidemiology Network (GIDEON): a world wide Web-based program for diagnosis and informatics in infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 2005;40(1):123-6.

¹¹ The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization.

¹² Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM et al. J. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004;39:1267-84.

¹³ Roca Goderich R. Meningitis. En: Roca Goderich R. Temas de Medicina Interna, t II, parte IV, cap .138, “Enfermedades del Sistema Nervioso Central”. La Habana: ECIMED, 2002.

¹⁴ Sharon E, MD, FACEP, FAAP. Acute bacterial Meningitis. Emerg Med Clin N Am 2008;38:281-317

¹⁵ Norris CM, Danis PG, Gardner TD. Aseptic meningitis in the newborn and young infant. Am Fam Physician. 1999;59(10):2761-70.

¹⁶ Ginsberg L. Difficult and recurrent meningitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004;75 Suppl 1:i16-21.

¹⁷ Boisson C, Arnaud S, Vialet R, Martin C. Severe community-acquired meningitis. Critical Care. 1999;3(4):R55-65

¹⁸ Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet 2012;380(9859):2095-128

¹⁹ Caugant DA. Population genetics and molecular epidemiology of Neisseria meningitidis. APMIS. 1998;106(5):505-25

²⁰ Tzeng YL, Thomas J, Stephens DS. Regulation of capsule in Neisseria meningitidis. Crit Rev Microbiol. 2016;42(5):759-72

²¹ Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS, Lefkowitz L, Cartter ML, Danila R, et al. The changing epidemiology of meningococcal disease in the United States, 1992-1996. J Infect Dis. 1999;180(6):1894-901.

²² Ficha Técnica de Bexsero©. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad), disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/especialidad.do?metodo=verPresentaciones&codigo=112812001>

²³ Enfermedades de declaración obligatoria. Informe anual 2014. Instituto de Salud Carlos III, disponible en: http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/EDO2014_1.pdf

²⁴ Verghese A, Gallenmore G. Kernig’s and Brudzinski’s signs revisited. Rev Infect Dis 1987; 9:1187–92.

²⁵ Adams RD, Victor M, Romper AH. Chapter 2, Special techniques for neurologic diagnosis. Principles of Neurology. 6th ed. USA: McGraw-Hill Companies Inc, 1997:12-40.

²⁶ Kahle KT, Kulkarni AV, Limbrick DD Jr, Warf BC. Hydrocephalus in children. *Lancet*. 2016;387(10020):788-99

²⁷ Gómez López L, Luaces Cubells C, Costa Clará JM, Palá Calvo MT, Martín Rodrigo JM, Palomeque Rico A, et al. Complicaciones de las válvulas de derivación de líquido cefalorraquídeo. *An Esp Pediatr* 1998; 4: 368-70

²⁸ Kiefer M, Unterberg A. The differential diagnosis and treatment of normal-pressure hydrocephalus. *Dtsch Arztebl Int*. 2012;109(1-2):15-25; quiz 26.

²⁹ Baraff LJ, Lee SI, Schriger DL. Outcomes of bacterial meningitis in children: a meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:389-94.

³⁰ World Health Organization (WHO). WHO report on infectious disease: overcoming antimicrobial resistance. Geneva, WHO. 2000.

³¹ Kollef MH. Antibiotic use and antibiotic resistance in the intensive care unit: are we curing or creating disease? *Heart Lung* 1994;23:363-7.

³² van de Beek D, Schmand B, de Gans J, Weisfelt M, Vaessen H, Dankert J, et al. Cognitive impairment in adults with good recovery after bacterial meningitis. *J Infect Dis*. 2002 Oct 1;186(7):1047-52.

³³ Sáez-Llorens X, McCracken GH. Bacterial meningitis in children. *Lancet* 2003;361(9375):2139-48

³⁴ van de Beek D, de Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EF. Community-acquired bacterial meningitis in adults. *New Engl J Med* 2006;354(1):44-53

³⁵ Sittinger H, Müller M, Schweizer I, Merkelbach S. Mild cognitive impairment after viral meningitis in adults. *J Neurol* 2002;249(5):554-60

³⁶ Mensa J, Martínez JA En: Rozman C. Medicina Interna, t I, sección 5, "Neumología". Barcelona, DOYMA, 1992.

³⁷ Fernandez Tena A, Casan Clara P. Deposition of inhaled particles in the lungs. *Arch Bronconeumol*. 2012;48(7):240–6.

³⁸ Cooper GE, Pounce ZC, Wallington JC, Bastidas-Legarda LY, Nicholas B, Chidomere C, et al. Viral Inhibition of Bacterial Phagocytosis by Human Macrophages: Redundant Role of CD36. *PLoS One*. 2016 Oct 4;11(10):e0163889.

³⁹ Welte T, Marre R, Suttorp N. Competence Network: ‘community-acquired pneumonia’ (CAPNETZ). A first interim report, 1591. *Internist (Berlin)* 2004;45:393–401

⁴⁰ Almirall J. et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *European Respiratory Journal*. 2000;15:757–63

⁴¹ Jokinen C. et al. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *American Journal of Epidemiology*. 1993;137:977–988

⁴² Levison ME, Kaye D. Pneumonia caused by gram-negative bacilli: an overview. *Rev Infect Dis*. 1985;7 Suppl 4:S656-65.

⁴³ Lopez AD, Murrey CC. The global burden of disease. *Nature Medicine*. 1998;4:1241–3

⁴⁴ Tisi GM. Arterial blood gases and pH. En: GM Tisi, ed. *Pulmonary Physiology in Clinical Medicine*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1980; 78.

⁴⁵ Sokolowski JW Jr, Burgher LW, Jones FL Jr, Patterson JR, Selecky PA. Guidelines for thoracentesis and needle biopsy of the pleura. This position paper of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, June 1988. *Am Rev Respir Dis*. 1989;140(1):257-8.

⁴⁶ Dimov V, Altaqi B. *Thoracentesis: A Step-by-Step Procedure Guide with Photos*. Clinical Notes. 2012.

⁴⁷ Falguera M, Ruiz-González A, Schoenenberger JA, Touzón C, Gázquez I, Galindo C, et al. Prospective, randomised study to compare empirical treatment versus targeted treatment on the basis of the urine antigen results in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *Thorax*. 2010;65:101–6.

⁴⁸ Lim WS, Baudouin SV, George RC, Hill AT, Jamieson C, Le Jeune I, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults:update 2009. *Thorax*. 2009;64(Suppl 3):iii1–55.

⁴⁹ Menendez R, Torres A. Treatment failure in community-acquired pneumonia. *Chest*. 2007;32:1348–55.

⁵⁰ Rosario M, Antoni T, Javier A, Alberto Capalastegui, Cristina P, Felipe RC. Neumonía adquirida en la comunidad. Nueva normativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Arch Bronconeumol 2010;46(10):543-58

⁵¹ Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DE et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. N Engl J Med 1997;336(4):243-50.

⁵² Lim WS, van der Eerden MM, Laing R, Boersma WG, Karalus N, Town GI et al. Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. Thorax. 2003;58(5):377-82.

⁵³ Aujesky D, Auble TE, Yealy DM, Stone RA, Obrosky DS, Meehan TP et al. Prospective comparison of three validated prediction rules for prognosis in community-acquired pneumonia. Am J Med. 2005;118(4):384-92.

⁵⁴ Vila Corcoles A, Ochoa Gondar O, Rodriguez Blanco, T. Utilidad de la escala CRB-65 en la evaluación pronóstica de los pacientes mayores de 65 años con neumonía adquirida en la comunidad. Med Clin 2010;135(3):208-15

⁵⁵ Wu HM, Cordeiro SM, Harcourt BH, Carvalho M, Azevedo J, Oliveira TQ et al. Accuracy of real-time PCR, Grain stain and culture for Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis and Haemophilus influenza meningitis diagnosis. BMC Infect Dis 2013;22;13-26

⁵⁶ Taskin E, Turgut M, Kiliç M, Akbulut H, Aygun AD. Serum procalcitonin and cerebrospinal fluid cytokines level in children with meningitis. Mediators Inflamm 2004;13:269-73.

⁵⁷ Ferrer A, Osset J, Alegre J, Suriñach JM, Crespo E, Fernandez de Sevilla T, et al. Prospective clinical and microbiological study of pleural effusions. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:237-41

⁵⁸ Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis. 2009;49(4):543-51

⁵⁹ Ferreria L, Sánchez-Juanes F, Porrás-Guerra F, García-García MI, García-Sánchez JE, Gonzalez-Buitrago JM et al. Microorganism direct identification from blood cultura by matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Microbiol Infect, 2011;17(4):546-51

⁶⁰ Negrini B, Kelleher KJ, Wald ER. Cerebrospinal fluid findings in aseptic versus bacterial meningitis. *Pediatrics* 2000;105:316-9.

⁶¹ Szamosi DI, Bautista JM, Cornbleet J, Glaseer L, Rothe G, Sandhaus L et al. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Body fluids analysis for cellular composition; Proposed Guideline. CLSI document H56-P (ISBN 1-56238-575-5). Clinical and Laboratory Standards Institute 2005;25.

⁶² Conner BD, Lee YC, Branca P, Rogers JT, Rodriguez RM, Light RW. Variations in pleural fluid WBC count and differential counts with different sample containers and different methods. *Chest* 2003;123(4):1181-7.

⁶³ Porcel JM. Pearls and myths in pleural fluid analysis. *Respirology* 2011;16(1):44-52

⁶⁴ NCCLS. Body fluids analysis for cellular composition: proposed guideline [NCCLS document H56-P, ISBN 1-56238-575-5]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania: NCCLS, USA, 2003.

⁶⁵ Krenke R, Nasilowski J, Korczynski P, Gorska K, Przybylowski T, Chazan R. Incidence and aetiology of eosinophilic pleural effusion. *Eur Respir J* 2009;34(5):1111-7

⁶⁶ Battelino T, Liabat S, Veeze HJ, Castañeda J, Arrieta A, Cohen O. Routine use of continuous glucose monitoring in 10 501 people with diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2015;32(12):1568-74.

⁶⁷ Spanos A, Harrell FE Jr, Durack DT. Differential diagnosis of acute meningitis. An analysis of the predictive value of initial observations. *JAMA*. 1989;262(19):2700-7.

⁶⁸ Porcel JM. Pleural fluid tests to identify complicated parapneumonic effusions. *Curr Opin Pulm Med*. 2010;16(4):357-61

⁶⁹ Reference Ranges for Adults and Children; Pre-Analytical Considerations de W. Heil, V. Ehrhardt (publicado por Roche Diagnostics GmbH, 2008).

⁷⁰ Light RW. Clinical practice. Pleural effusion. *N Engl J Med*. 2002;346(25):1971-7.

⁷¹ Heffner JE, Brown LK, Barbieri CA. Diagnostic value of tests that discriminate between exudative and transudative pleural effusions. Primary Study Investigators. *Chest*. 1997 Apr;111(4):970-80.

⁷² Romero-Candeira S, Fernández C, Martín C, Sánchez-Paya J, Hernández L. Influence of diuretics on the concentration of proteins and other components of pleural transudates in patients with heart failure. *Am J Med.* 2001 Jun 15;110(9):681-6.

⁷³ Leuallen EC, Carr DT. Pleural effusion, a statistical study of 436 patients. *N Engl J Med* 1955; 252: 79-83.

⁷⁴ Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C – Part 3. Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Concentrations of Lactate Dehydrogenase. *Clin Chem Lab Med* 2002, 40 (6): 643-648.

⁷⁵ Dash PC, Patro D. Role of CSF CK, LDH, GGTP Enzyme Levels in Diagnostic and Prognostic Evaluation of Meningitis. Role of CSF CK, LDH, GGTP Enzyme Levels in Diagnostic and Prognostic Evaluation of Meningitis. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(7):MC19-22.

⁷⁶ Porcel JM, Esquerda A, Martínez M, Rodríguez-Panadero F, Bielsa S. Influence of pleural fluid red blood cell count on the misidentification of transudates. *Med Clin (Barc).* 2008;131(20):770-2.

⁷⁷ Fuhrman MP, Charney P, Mueller CM. Hepatic proteins and nutrition assessment. *J Am Diet Assoc.* 2004;104(8):1258-64

⁷⁸ Zhang HL, Zhang XM, Mao XJ, Deng H, Li HF, Press R, et al. Altered cerebrospinal fluid index of prealbumin, fibrinogen, and haptoglobin in patients with Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Acta Neurol Scand.* 2012;125(2):129-35.

⁷⁹ Light RW. Pleural effusion. *N Engl J Med* 2002; 346:1971-7.

⁸⁰ Bielsa S, Porcel JM, Castellote J, Mas E, Esquerda A, Light RW. Solving the Light's criteria misclassification rate of cardiac and hepatic transudates. *Respirology.* 2012;17(4):721-6.

⁸¹ Burke, M.D. Blood gas measurements. *Post Grad. Med* 64:163, 1978.

⁸² Yoon S, Zuccarello M, Rapoport RM. pCO₂ and pH regulation of cerebral blood flow. *Front Physiol.* 2012;3:365.

⁸³ Ulus F, Hellberg A, Tulga Ulus A, Karacagil S, Alteraciones de los valores de pO₂, pCO₂ y pH en líquido cefalorraquídeo, durante y después del clamplaje de la aorta torácica: estudio experimental. *Ann Vasc Surg.* 2009;23:22-7

⁸⁴ Rahman NM, Mishra EK, Davies HE, Davies RJ, Lee YC. Am J Respir Crit Care Med 2008; 178:483-90

⁸⁵ Shen Y, Zhu H, Wan C, Chen L, Wang T, Yang T, et al. Can cholesterol be used to distinguish pleural exudates from transudates? evidence from a bivariate meta-analysis. BMC Pulm Med. 2014 15;14:61

⁸⁶ Peisajovich A, Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein at the interface between innate immunity and inflammation. Expert Rev Clin Immunol. 2008;4(3):379-90.

⁸⁷ Bowman BH. Hepatic Plasma Proteins. San Diego: Academic Press 1993:47-95.

⁸⁸ Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet. 1993;341(8844):515-8.

⁸⁹ Whang KT, Steinwald PM, White JC, Nylén ES, Snider RH, et al. Serum calcitonin precursors in sepsis and systemic inflammation. J Clin Endocrinol Metab. 1998;83(9):3296-301.

⁹⁰ Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J, Lasmoles F, Guliana JM, Milhaud G, et al. The complete sequence of human procalcitonin. FEBS Lett. 1984 Feb 13;167(1):93-7.

⁹¹ Müller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86(1):396-404.

⁹² Meisner M. Procalcitonina – Diagnóstico bioquímico y clínico. 1ª ed. Bremen: Uni-Med Science; 2011.

⁹³ Meisner M, Adina H, Schmidt J. Correlation of procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, complications, and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients. Crit Care. 2006 Feb;10(1):R1.

⁹⁴ Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF, Anker SD. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. Int J Cardiol. 1999;72(1):3-10.

⁹⁵ Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuani A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. Crit Care. 2004;8(4):R234-42.

⁹⁶ Bradley EL 3rd. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992. *Arch Surg.* 1993;128(5):586-90.

⁹⁷ Matzaraki V, Alexandraki KI, Venetsanou K, Piperi C, Myrianthefs P, Malamos N, et al. Evaluation of serum procalcitonin and interleukin-6 levels as markers of liver metastasis. *Clin Biochem.* 2007;40(5-6):336-42.

⁹⁸ Elefsiniotis IS, Skounakis M, Vezali E, Pantazis KD, Petrocheilou A, Pirounaki M, et al. Clinical significance of serum procalcitonin levels in patients with acute or chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006;18(5):525-30.

⁹⁹ Herget-Rosenthal S, Klein T, Marggraf G, Hirsch T, Jakob HG, Philipp T, et al. Modulation and source of procalcitonin in reduced renal function and renal replacement therapy. *Scand J Immunol.* 2005 Feb;61(2):180-6.

¹⁰⁰ Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P et al. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial and viral meningitis. *Clinical Infectious Diseases* 1997;24:1240-2

¹⁰¹ Jereb M, Muzlovic I, Hojker S, Strle F. Predictive value of serum and cerebrospinal fluid procalcitonin levels for the diagnosis of bacterial meningitis. *Infection* 2001;29:209-12.

¹⁰² Dubos F, Moulin F, Gajdos V, De Suremain N, Biscardi S, Lebon P et al. Serum procalcitonin and other biologic markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis. *J Pediatr* 2006;149:72-6

¹⁰³ Martínez R, Gaul C, Buchfelder M, Erbuth F, Tschalkowsky K. Serum procalcitonin monitoring for differential diagnosis of meningitis and ventriculitis in adult intensive care patients. *Intensive Care Med* 2002;28:399-405

¹⁰⁴ Shimetani N, Shimetani K, Mori M. Levels of three inflammation markers, C-reactive protein, serum amyloid A protein and procalcitonin, in the serum and cerebrospinal fluid of patients with meningitis. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:567-574

¹⁰⁵ Viallon A, Zeni F, Lambert C, Pozzetto B, Tardy B, Venet C et al. High sensitivity and specificity of serum procalcitonin levels in adults with bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 1999;28:1313-6.

¹⁰⁶ Huang DT, Weissfeld LA, Kellum JA, Yealy DM, Kong L, Martino M, et al. Risk prediction with procalcitonin and clinical rules in community-acquired pneumonia. *Annals of Emergency Medicine* 2008; DOI 10.1016:0-11

¹⁰⁷ Hedlund J, Hansson LO. Procalcitonin and C-reactive Protein levels in community-acquired pneumonia: correlation with etiology and prognosis. *Infection* 2000;28:68-73

¹⁰⁸ Korppi M, Remes S, Heiskanen-Kosma T. Serum procalcitonin concentrations in bacterial pneumonia in children: a negative result in primary healthcare settings. *Pediatric Pulmonology* 2003;35:56-61

¹⁰⁹ Schleicher GK, Herbert V, Brink A, Martin S, Maraj R, Galpin JS, et al. Procalcitonin and C-reactive protein levels in HIV-positive subjects with tuberculosis and pneumonia. *Eur Respir J* 2005;25:688-692

¹¹⁰ Krüger S, Ewig S, Marre R et al. Procalcitonin predicts patients at low risk of death from community-acquired pneumonia across all CRB-65 classes. *Eur Respir J* 2008;31:349-55

¹¹¹ Moulin F, Raymond J, Lorrot M, Marc E, Coste J, Iniguez JL, et al. Procalcitonin in children admitted to hospital with community acquired pneumonia. *Arch Dis Child*. 2001;84(4):332-6.

¹¹² Wang CY, Hsiao YC, Jerng JS, Ho CC, Lai CC, Yu CJ, et al. Diagnostic value of procalcitonin in pleural effusions. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;3:313-8

¹¹³ San José ME, Valdés L, Vizcaíno LH, Mora T, Pose A, Soneira E, et al. Procalcitonin, C-reactive protein, and cell counts in the diagnosis of parapneumonic pleural effusions. *J Investig Med*. 2010;58(8):971-6.

¹¹⁴ Botana-Rial M, Casado-Rey P, Leiro-Fernández V, Andrade-Olivié M, Represas-Represas C, Fernández-Villar A. Validity of procalcitonin and C-reactive protein measurement when differentiating between benign and malignant pleural effusion. *Clin Lab*. 2011;57(5-6):373-8.

¹¹⁵ Wilson DK, Rudolph FB, Quijcho FA. Atomic structure of adenosine deaminase complexed with a transition-state analog: understanding catalysis and immunodeficiency mutations. *Science*. 1991;252(5010):1278-84.

¹¹⁶ Cristalli G, Costanzi S, Lambertucci C, Lupidi G, Vittori S, Volpini R, et al. Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Med Res Rev*. 2001;21(2):105-28.

¹¹⁷ Schrader WP, Pollara B, Meuwissen HJ. Characterization of the residual adenosine deaminating activity in the spleen of a patient with combined

immunodeficiency disease and adenosine deaminase deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1978;75(1):446–50.

¹¹⁸ Álvarez, FV. *Líquidos biológicos: actualización del análisis en el laboratorio*. SEQC. Ed. Glosa. 2010.

¹¹⁹ Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(3):701-21.e1-70.

¹²⁰ Sahoo A, Im SH. Interleukin receptor diversity: role of alternative splicing. *Int Rev Immunol*. 2010;29(1):77-109.

¹²¹ Guo L, Junttila IS, Paul WE. Cytokine-induced cytokine production by conventional and innate lymphoid cells. *Trends Immunol*. 2012;33(12):598-606.

¹²² Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signaling and its regulation. *Biochem J* 2003;15;374:1-20

¹²³ Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S233-42.

¹²⁴ Ferguson-Smith AC, Chen YF, Newman MS, May LT, Sehgal PB, Ruddle FH. Regional localization of the interferon-beta 2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulating factor gene to human chromosome 7p15-p21. *Genomics*. 1988;2(3):203-8.

¹²⁵ Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, et al. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell*. 1989;58(3):573-81.

¹²⁶ Cava F, González C, Pascual MJ, Navajo JA, González-Buitrago JM. Biological variation of interleukin 6 (IL-6) and soluble interleukin 2 receptor (sIL2R) in serum of healthy individuals. *Cytokine*. 2000;12(9):1423-5.

¹²⁷ Klareskog L, Amara K, Malmström V. Adaptive immunity in rheumatoid arthritis: anticitrulline and other antibodies in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2014;26(1):72-9

¹²⁸ Nishimoto N. Interleukin-6 in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2006;18(3):277-81.

¹²⁹ Yoshimoto T, Morishima N, Okumura M, Chiba Y, Xu M, Mizuguchi J. Interleukins and cancer immunotherapy. *Immunotherapy*. 2009;1(5):825-44.

-
- ¹³⁰ Xie G, Yao Q, Liu Y, Du S, Liu A, Guo Z, et al. IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition promotes the generation of breast cancer stem-like cells analogous to mammosphere cultures. *Int J Oncol.* 2012;40(4):1171-9
- ¹³¹ Gasche JA, Hoffmann J, Boland CR, Goel A. Interleukin-6 promotes tumorigenesis by altering DNA methylation in oral cancer cells. *Int J Cancer.* 2011;129(5):1053-63.
- ¹³² Peters MC, McGrath KW, Hawkins GA, Hastie AT, Levy BD, Israel E, et al. Plasma interleukin-6 concentrations, metabolic dysfunction, and asthma severity: a cross-sectional analysis of two cohorts. *Lancet Respir Med.* 2016;4(7):574-84.
- ¹³³ Meisner M. Procalcitonin: Erfahrungen mit einer neuen Messgroesse fuer bakterielle Infektionen und systemische Inflammation. *J Lab Med* 1999;23:263-72
- ¹³⁴ Müller B, Becker KL, Schächinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, et al. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med.* 2000;28(4):977-83.
- ¹³⁵ Oda S, Hirasawa H, Shiga H, Nakanishi K, Matsuda K, Nakamura M. Sequential measurement of IL-6 blood levels in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS)/sepsis. *Cytokine.* 2005;29(4):169-75.
- ¹³⁶ Goepfert AR, Andrews WW, Carlo W, Ramsey PS, Cliver SP, Goldenberg RL et al. Umbilical cord plasma interleukin-6 concentrations in preterm infants and risk of neonatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(4):1375-81
- ¹³⁷ Prieto B, Miguel D, Costa M, Coto D, Álvarez FV. New quantitative electrochemiluminescence method (ECLIA) for interleukin-6 (IL-6) measurement. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(6):835-838.
- ¹³⁸ Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, et al. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;192:553–60.
- ¹³⁹ A review of the biological properties and clinical implications of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP), hypotensive and vasodilating peptides T. Eto *Peptides* 22 (2001) 1693–1711
- ¹⁴⁰ Kitamura K, Ichiki Y, Tanaka M, Kawamoto M, Emura J, Sakakibara S, et al. Immunoreactive adrenomedullin in human plasma. *FEBS Lett* 1994;341:288–90.

¹⁴¹ Takahashi K, Sone M, Satoh F, Murakami O, Totsune K, Tanji H, et al. Presence of adrenomedullin-like immunoreactivity in the human cerebrospinal fluid. *Peptides* 1997;18:459–61.

¹⁴² Kitamura K, Kangawa K, Kojima M, Ichiki Y, Matsuo H, Eto T. Complete amino acid sequence of porcine adrenomedullin and cloning of cDNA encoding its precursor. *FEBS Lett* 1994;338:306–10.

¹⁴³ Eguchi S, Hirata Y, Kano H, Sato K, Watanabe Y, Watanabe TX, et al. Specific receptors for adrenomedullin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1994;340, 226 – 230.

¹⁴⁴ Kitamura K, Kangawa K, Ishiyama Y, Washimine H, Ichiki Y, Kawamoto M, et al. Identification and hypotensive activity of proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP). *FEBS Lett* 1994;351, 35 – 37.

¹⁴⁵ Masada K, Nagayama T, Hosokawa A, Yoshida M, Suzuki-Kusaba M, Hisa H, et al. Effects of adrenomedullin and PAMP on adrenal catecholamine release in dogs. *Am J Physiol.* 1999;276(4 Pt 2):R1118-24.

¹⁴⁶ Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem.* 2005;51(10):1823-9.

¹⁴⁷ Potocki M, Breidhardt T, Reichlin T, Morgenthaler NG, Bergmann A, Noveanu M, et al. Midregional pro-adrenomedullin in addition to b-type natriuretic peptides in the risk stratification of patients with acute dyspnea: an observational study. *Crit Care.* 2009;13(4):R122.

¹⁴⁸ Hirata Y, Mitaka C, Sato K, Nagura T, Tsunoda Y, Amaha K, et al. Increased circulating adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in sepsis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(4):1449-53.

¹⁴⁹ Kobayashi K, Kitamura K, Hirayama N, Date H, Kashiwagi T, Ikushima I, et al. Increased plasma adrenomedullin in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1996;131:676–80.

¹⁵⁰ Asakawa H, Nishikimi T, Suzuki T, Hara S, Tsubokou Y, Yagi H, et al. Elevation of two molecular forms of adrenomedullin in plasma and urine in patients with acute myocardial infarction treated with early coronary angioplasty. *Clin Sci* 2001;100:117–26.

¹⁵¹ Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Yoshitomi Y, Miyao Y, Miyazaki S, et al. Plasma adrenomedullin as an indicator of prognosis after acute myocardial infarction *Heart*. 1999; 81(5): 483–487.

¹⁵² Maisel A, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, Landsberg JW, Ponikowski P, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(19):2062-76.

¹⁵³ Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Stolz D, Müller C, Bingisser R, Harbarth S, et al. Pro-adrenomedullin to predict severity and outcome in community-acquired pneumonia. *Crit Care*. 2006;10(3):R96.

¹⁵⁴ Midregional proadrenomedullin as a prognostic tool in community-acquired pneumonia. Huang DT, Angus DC, Kellum JA, Pugh NA, Weissfeld LA, Struck J, et al. Midregional proadrenomedullin as a prognostic tool in community-acquired pneumonia. *Chest*. 2009;136(3):823-31.

¹⁵⁵ Mira JP, Max A, Burgel PR. The role of biomarkers in community-acquired pneumonia: predicting mortality and response to adjunctive therapy. *Crit Care*. 2008;12 Suppl 6:S5.

¹⁵⁶ Krüger S, Ewig S, Kunde J, Hartmann O, Suttorp N, Welte T et al. Pro-atrial natriuretic peptide and pro-vasopressin for predicting short-term and long-term survival in community-acquired pneumonia: results from the German Competence Network CAPNETZ. *Thorax*. 2010;65(3):208-14.

¹⁵⁷ Porcel JM, Bielsa S, Morales-Rull JL, Civit C, Cao G, Light RW, et al. Comparison of pleural N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, midregion pro-atrial natriuretic peptide and mid-region pro-adrenomedullin for the diagnosis of pleural effusions associated with cardiac failure. *Respirology*. 2013;18(3):540-5.

¹⁵⁸ Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *Eur J Neurol* 2006;13: 913–922.

¹⁵⁹ Material de referencia 89/548 del NIBSC. <https://www.nibsc.org/documents/ifu/89-548.pdf>

¹⁶⁰ Prieto B, Miguel D, Costa M, et al. New quantitative electrochemiluminescence method (ECLIA) for interleukin-6 (IL-6) measurement. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 835–838.

¹⁶¹ Bonadio WA. The cerebrospinal fluid: physiologic aspects and alterations

associated with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 423–31.

¹⁶² Tunkel AR, Scheld WM. Issues in the management of bacterial meningitis. *Am Fam Physician* 1997; 56: 1355–62.

¹⁶³ Heckenberg SG, Brouwer MC, van de Beek D. Bacterial meningitis. *Handb Clin Neurol* 2014; 121: 1361–75.

¹⁶⁴ Macfarlane DE and Narla VR. Cerebrospinal fluid C-reactive protein in the laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 560–563.

¹⁶⁵ Abramson JS, Hampton KD, Babu S, et al. The use of C-reactive protein from cerebrospinal fluid for differentiating meningitis from other central nervous system diseases. *J Infect Dis* 1985; 151:854–858.

¹⁶⁶ Nathan BR and Scheld WM. The potential roles of C-reactive protein and procalcitonin concentrations in the serum and cerebrospinal fluid in the diagnosis of bacterial meningitis. *Curr Clin Top Infect Dis* 2002; 22:155–165.

¹⁶⁷ Gendrel D, Raymond J, Assicot M, et al. Procalcitonin, C-reactive protein and interleukin 6 in bacterial and viral meningitis in children. *Presse Med* 1998; 27: 1135–9.

¹⁶⁸ Llorente Fernández M. Evaluación de la utilidad diagnóstica de la Procalcitonina en diferentes fluidos biológicos. Oviedo: Universidad de Oviedo; 2007.

¹⁶⁹ Su H, Chang SS, Han CM, et al. Inflammatory markers in cord blood or maternal serum for early detection of neonatal sepsis-a systemic review and meta-analysis. *J Perinatol* 2014; 34: 268–74.

¹⁷⁰ Shahkar L, Keshtkar A, Mirfazeli A, et al. The role of IL-6 for predicting neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Iran J Pediatr* 2011; 21: 411–7.

¹⁷¹ Gruol DL and Nelson TE. Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. *Mol Neurobiol* 1997; 15: 307–39.

¹⁷² Vázquez JA, Adducci MC, Coll C, et al. Acute meningitis prognosis using cerebrospinal fluid interleukin-6 levels. *J Emerg Med* 2012; 43: 322–7.

¹⁷³ Prasad T, Kapoor R, Srivastava R, et al. Cerebrospinal Fluid TNF- α , IL-6, and IL-8 in children with bacterial meningitis. *Pediatr Neurol* 2014; 50:60-5.

¹⁷⁴ Sasayama D, Hattori K, Wakabayashi C, et al. Increased cerebrospinal fluid interleukin-6 levels in patients with schizophrenia and those with major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 2013; 47: 401–6.

-
- ¹⁷⁵ Kiliç, M, Ulusoy O, Cirrik S, et al. Effect of exercise intensity on cerebrospinal fluid interleukin-6 concentration during recovery from exhaustive exercise in rats. *Acta Physiol Hung* 2013; 5: 1–11.
- ¹⁷⁶ Mukai AO, Krebs VLJ, Bertoli CJ, et al. TNF- α and IL-6 in the diagnosis of bacterial and aseptic meningitis in children. *Pediatr Neurol* 2006; 34:25-9
- ¹⁷⁷ Hsieh CC, Lu JH, Chen SJ, et al. Cerebrospinal fluid levels of interleukin-6 and interleukin-12 in children with meningitis. *Child's Nerv Syst* 2009; 25:461–5.
- ¹⁷⁸ Pinto-Junior VL, Rebelo MC, Gomes RN, et al. IL-6 and IL-8 in cerebrospinal fluid from patients with aseptic meningitis and bacterial meningitis: their potential role as a marker for differential diagnosis. *Braz J Infect Dis* 2011; 15: 156–8.
- ¹⁷⁹ Takahashi W, Nakada TA, Abe R, Tanaka K, Matsumura Y, Oda S. Usefulness of interleukin 6 levels in the cerebrospinal fluid for the diagnosis of bacterial meningitis. *J Crit Care*. 2014;29(4):693
- ¹⁸⁰ García-Hernández P, Prieto B, Martínez-Morillo E, Rodríguez V, Álvarez FV. Interleukin-6 in cerebrospinal fluid as a biomarker of acute meningitis. *Ann Clin Biochem*. 2016;53(Pt 1):155-63.
- ¹⁸¹ Brailly H, Montero-Julian FA, Zuber CE, et al. J. Total interleukin-6 in plasma measured by immunoassay. *Clin Chem* 1994; 40: 116–23.
- ¹⁸² Spencer CA, Bergoglio LM, Kazarosyan M, Fatemi S, LoPresti JS. Clinical impact of thyroglobulin (Tg) and Tg autoantibody method differences on the management of patients with differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(10):5566-75.
- ¹⁸³ Banks WA, Kastin AJ and Gutierrez EG. Penetration of interleukin-6 across the blood-brain barrier. *Neurosci Lett* 1995; 179: 53–6.
- ¹⁸⁴ Banks WA, Lynch JL and Price TO. Cytokines and the blood-brain barrier. In: Siegel A and Zalcman SS (eds) *The neuroimmunological basis of behavior and mental disorders*. New York: Springer, 2009, pp.3–17.
- ¹⁸⁵ Prasad K and Karlupia N. Prevention of bacterial meningitis: an overview of Cochrane systematic reviews. *Respir Med* 2007; 101:2037–2043.
- ¹⁸⁶ Special Eurobarometer 445 – “Antimicrobial Resistance” Report. April 2016. Survey requested by the European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety and co-ordinated by the Directorate-General for Communication. Disponible en https://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/eb445_amr_generalreport_en.pdf
- ¹⁸⁷ Solbrig MV, Healy JF, Jay CA. Infections of the nervous system. En: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD, editores. *Neurology in Clinical Practice*. Boston: Butterworth–Heinemann; 2000. p.1317–51.

-
- ¹⁸⁸ Wubbel L, McCracken GH Jr. Management of bacterial meningitis. *Pediatr Rev.* 1998;19(3):78-84
- ¹⁸⁹ Reynolds PE. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1989;8(11):943-50.
- ¹⁹⁰ Que YA, Moreillon P. Staphylococcus aureus (including staphylococcal toxic shock syndrome). En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editores. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Updated Edition.* Octava edición. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015:capítulo 196.
- ¹⁹¹ Sullins AK, Abdel-Rahman SM. Pharmacokinetics of antibacterial agents in the CSF of children and adolescents. *Paediatr Drugs.* 2013; 15(2):93-117.
- ¹⁹² Reinhart K, Wiegand-Löhnert C, Grimminger F, Kaul M, Withington S, Treacher D, et al. Assessment of the safety and efficacy of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody-fragment, MAK 195F, in patients with sepsis and septic shock: a multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study. *Crit Care Med.* 1996;24(5):733-42.
- ¹⁹³ Misra UK, Kalita J, Srivastava R, Nair PP, Mishra MK, Basu A. A study of cytokines in tuberculous meningitis: clinical and MRI correlation. *Neurosci Lett.* 2010;483(1):6-10.
- ¹⁹⁴ Dan Dano I, Missi Oukem-Boyer OO, Mahamane AE and Sadou H. Determination of Interleukin-6 (IL-6) in Cerebrospinal Fluid: Potential Role for the Evaluation of the Vital Prognosis in Bacterial Meningitis. *Journal of Biological Sciences.* 2016; 16: 136-40.
- ¹⁹⁵ Nigeria: WHO statistical profile. Organización Mundial de la Salud, en <http://www.who.int/gho/countries/nga.pdf?ua=1>
- ¹⁹⁶ Trotter CL, Stuart JM, George R, Miller E. Increasing hospital admissions for pneumonia, England. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:727–33.
- ¹⁹⁷ Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis.* 2007 Mar 1;44 Suppl 2:S27-72.
- ¹⁹⁸ Tarn Anne C and Lapworth R. Biochemical analysis of pleural fluids: what should be measure. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 311-22.
- ¹⁹⁹ Porcel JM, Light RW. Pleural effusions due to pulmonary embolism. *Curr Opin Pulm Med.* 2008;14(4):337-42.
- ²⁰⁰ Rosón B, Carratalà J, Fernández-Sabé N, Tubau F, Manresa F, Gudiol F. Causes and factors associated with early failure in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *J Arch Intern Med.* 2004;164:502–8.

-
- ²⁰¹ Noguera Bennaser A, Galán Ortega A, Guillén Campuzano E, Hortas Nieto ML, Marín Soria JL, Padrós Soler G. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Recomendaciones para el estudio de líquidos biológicos serosos en el laboratorio de urgencias. *Química Clínica* 2004;23(3):141-5
- ²⁰² Jay SJ. Diagnostic procedures for pleural disease. *Clin Chest Med*. 1985;6(1):33-48.
- ²⁰³ Yokoyama A, Maruyama M, Ito M, Kohno N, Hiwada K, Yano S. Interleukin 6 activity in pleural effusion. Its diagnostic value and thrombopoietic activity. *Chest*. 1992;102(4):1055-9.
- ²⁰⁴ Xirouchaki N, Tzanakis N, Bouros D, Kyriakou D, Karkavitsas N, Alexandrakis M et al. Diagnostic value of interleukin-1alpha, interleukin-6, and tumor necrosis factor in pleural effusions. *Chest*. 2002 Mar;121(3):815-20.
- ²⁰⁵ San José ME, Valdes L, Gonzalez-Barcala FJ, Vizcaino L, Garrido M, Sanmartin A, et al. Diagnostic value of proinflammatory interleukins in parapneumonic effusions. *Am J Clin Pathol*. 2010;133(6):884-91.
- ²⁰⁶ Wong CF, Yew WW, Leung SK, Chan CY, Hui M, Au-Yeang C et al. Assay of pleural fluid interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma in the diagnosis and outcome correlation of tuberculous effusion. *Respir Med*. 2003;97(12):1289-95.
- ²⁰⁷ Daniil ZD, Zintzaras E, Kiropoulos T, Papaioannou AI, Koutsokera A, Kastanis A, et al. Discrimination of exudative pleural effusions based on multiple biological parameters. *Eur Respir J*. 2007;30(5):957-64.
- ²⁰⁸ Marie C, Losser MR, Fitting C, Kermarrec N, Payen D, Cavaillon JM. Cytokines and soluble cytokine receptors in pleural effusions from septic and nonseptic patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(5):1515-22.
- ²⁰⁹ McQuillan P, Pilkington S, Allan A, Taylor B, Short A, Morgan G, et al. Confidential inquiry into quality of care before admission to intensive care. *BMJ*. 1998;316:1853-8.
- ²¹⁰ Anguita Sánchez M, Crespo Leiro MG, de Teresa Galván E, Jiménez Navarro M, Alonso-Pulpón L, Muñiz García J et al. Prevalence of heart failure in the Spanish general population aged over 45 years. The PRICE Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61(10):1041-9.
- ²¹¹ Charles PG, Wolfe R, Whitby M, Fine MJ, Fuller AJ, Stirling R, et al. SMARTCOP: A tool for predicting the need for intensive respiratory or vasopressor support in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2008;47:375-84.

²¹² España PP, Capelastegui A, Gorordo I, Esteban C, Oribe M, Ortega M, et al. Development and validation of a clinical prediction rule for severe community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:1249–56.

²¹³ Rello J, A R, Lisboa T, et al. PIRO score for community-acquired pneumonia: a new prediction rule for assessment of severity in intensive care unit patients with community-acquired pneumonia. *Crit Care Med*. 2009;37:456–62.

²¹⁴ Zobel K, Martus P, Pletz MW, Ewig S, Prediger M, Welte T, et al. Interleukin 6, lipopolysaccharide-binding protein and interleukin 10 in the prediction of risk and etiologic patterns in patients with community-acquired pneumonia: results from the German competence network CAPNETZ. *BMC Pulm Med*. 2012;12:6

²¹⁵ Andrijevic I, Matijasevic J, Andrijevic L, Kovacevic T, Zaric B. Interleukin-6 and procalcitonin as biomarkers in mortality prediction of hospitalized patients with community acquired pneumonia. *Ann Thorac Med*. 2014;9(3):162-7.

²¹⁶ Gardner-Thorpe J, Love N, Wrightson J, Walsh S, Keeling N. The Value of Modified Early Warning Score (MEWS) in Surgical In-Patients: A Prospective Observational Study. *Ann R Coll Surg Engl*. 2006 Oct; 88(6): 571–5.

²¹⁷ Menéndez R, Martínez R, Reyes S, Mensa J, Filella X, Marcos MA, et al. Biomarkers improve mortality prediction by prognostic scales in community-acquired pneumonia. *Thorax*. 2009;64(7):587-91

²¹⁸ Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med*. 2007 Aug 13-27;167(15):1655-63.

²¹⁹ Yende S, D'Angelo G, Kellum JA, Weissfeld L, Fine J, Welch RD, et al. Inflammatory markers at hospital discharge predict subsequent mortality after pneumonia and sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177(11):1242-7.

²²⁰ Lee YS, Kim HC, Lee BY, Lee CK, Kim MY, Jang SJ et al. The Value of Biomarkers as Predictors of Outcome in Patients with Rheumatoid Arthritis-Associated Usual Interstitial Pneumonia. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2016;33(3):2-223.

²²¹ Sun J, Su J, Xie Y, Yin MT, Huang Y, Xu L, et al. Plasma IL-6/IL-10 Ratio and IL-8, LDH, and HBDH Level Predict the Severity and the Risk of Death in AIDS Patients with Pneumocystis Pneumonia. *J Immunol Res*. 2016;2016:1583951. doi: 10.1155/2016/1583951. Epub 2016 Aug 7.

²²² Stolz D, Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Miedinger D, Leuppi J, Müller C, et al. Plasma pro-adrenomedullin but not plasma pro-endothelin predicts survival in exacerbations of COPD. *Chest*. 2008;134(2):263-72

²²³ Khan SQ, O'Brien RJ, Struck J, Quinn P, Morgenthaler N, Squire I. Prognostic value of midregional pro-adrenomedullin in patients with acute myocardial infarction: the LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide) study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(14):1525-32

²²⁴ Adlbrecht C, Hülsmann M, Strunk G, Berger R, Mörtl D, Struck J et al. Prognostic value of plasma midregional pro-adrenomedullin and C-terminal-pro-endothelin-1 in chronic heart failure outpatients. *Eur J Heart Fail*. 2009 Apr;11(4):361-6

²²⁵ Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Struck J, Harbarth S, Bergmann A, Müller B. Mid-regional pro-adrenomedullin as a prognostic marker in sepsis: an observational study. *Crit Care*. 2005;9(6):R816-24.

²²⁶ Schuetz P, Christ-Crain M, Müller B. Biomarkers to improve diagnostic and prognostic accuracy in systemic infections. *Curr Opin Crit Care*. 2007;13(5):578-85.

²²⁷ Ruiz-González A, Esquerda A, Porcel JM, Bielsa S, Valencia H, Cao G, et al. A pilot study on the diagnostic accuracy of proadrenomedullin and proatrial natriuretic Peptide in lower respiratory tract infections. *Open Respir Med J*. 2014;8:22-7.

²²⁸ Póvoa P, Martin-Loeches I, Ramirez P, Bos LD, Esperatti M, Silvestre J, et al. Biomarker kinetics in the prediction of VAP diagnosis: results from the BioVAP study. *Ann Intensive Care*. 2016;6(1):32.

²²⁹ Zhou M, Ba ZF, Chaudry IH, Wang P. Adrenomedullin binding protein-1 modulates vascular responsiveness to adrenomedullin in late sepsis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;283(3):R553-60.

²³⁰ Angeletti S, Battistoni F, Fioravanti M, Bernardini S, Dicuonzo G. Procalcitonin and mid-regional pro-adrenomedullin test combination in sepsis diagnosis. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(5):1059-67.

²³¹ Bello S, Lasiera AB, Mincholé E, Fandos S, Ruiz MA, Vera E, et al. Prognostic power of proadrenomedullin in community-acquired pneumonia is independent of aetiology. *Eur Respir J*. 2012;39(5):1144-55.

²³² Gordo-Remartínez S, Calderón-Moreno M, Fernández-Herranz J, Castuera-Gil A, Gallego-Alonso-Colmenares M, Puertas-López C, et al. Usefulness of midregional proadrenomedullin to predict poor outcome in patients with community acquired pneumonia. *PLoS One*. 2015;10(6)

-
- ²³³ España PP, Capelastegui A, Mar C, Bilbao A, Quintana JM, Diez R, et al. Performance of pro-adrenomedullin for identifying adverse outcomes in community-acquired pneumonia. *J Infect.* 2015;70(5):457-66
- ²³⁴ Cavallazzi R, El-Kersh K, Abu-Atherah E, Singh S, Loke YK, Wiemken T, et al. Midregional proadrenomedullin for prognosis in community-acquired pneumonia: a systematic review. *Respir Med.* 2014;108(11):1569-80.
- ²³⁵ Albrich WC, Rüegger K, Dusemund F, Schuetz P, Arici B, Litke A, et al. Biomarker-enhanced triage in respiratory infections: a proof-of-concept feasibility trial. *Eur Respir J.* 2013;42(4):1064-75
- ²³⁶ Nishikimi T, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kangawa K, Nakao K. Adrenomedullin in cardiovascular disease: a useful biomarker, its pathological roles and therapeutic application. *Curr Protein Pept Sci.* 2013;14(4):256-67.
- ²³⁷ Gegenhuber A, Struck J, Dieplinger B, Poelz W, Pacher R, Morgenthaler NG, et al. Comparative evaluation of B-type natriuretic peptide, mid-regional pro-A-type natriuretic peptide, mid-regional pro-adrenomedullin, and Copeptin to predict 1-year mortality in patients with acute destabilized heart failure. *J Card Fail.* 2007;13(1):42-9.
- ²³⁸ Jackson CE, Haig C, Welsh P, Dalzell JR, Tsorlalis IK, McConnachie A, et al. The incremental prognostic and clinical value of multiple novel biomarkers in heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2016;18(12):1491-8.
- ²³⁹ Doehner W, Rozentryt P, Vassanelli C, Struck J, Banasiak W, Ponikowski P, et al. Mid-regional pro-adrenomedullin as a novel predictor of mortality in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2010;12(5):484-91.
- ²⁴⁰ Fernandez-Sauze S, Delfino C, Mabrouk K, Dussert C, Chinot O, Martin PM, et al. Effects of adrenomedullin on endothelial cells in the multistep process of angiogenesis: involvement of CRLR/RAMP2 and CRLR/RAMP3 receptors. *Int J Cancer.* 2004;108(6):797-804.
- ²⁴¹ Miller MJ, Martínez A, Unsworth EJ, Thiele CJ, Moody TW, Elsasser T, et al. Adrenomedullin expression in human tumor cell lines. Its potential role as an autocrine growth factor. *J Biol Chem.* 1996;271(38):23345-51.
- ²⁴² Larráyoiz IM, Martínez-Herrero S, García-Sanmartín J, Ochoa-Callejero L, Martínez A. Adrenomedullin and tumour microenvironment. *J Transl Med.* 2014;12:339.
- ²⁴³ Pavel ME, Hoppe S, Papadopoulos T, Linder V, Mohr B, Hahn EG, et al. Adrenomedullin is a novel marker of tumor progression in neuroendocrine carcinomas. *Horm Metab Res.* 2006;38(2):112-8.
- ²⁴⁴ Oehler MK, Fischer DC, Orlowska-Volk M, Herrle F, Kieback DG, Rees MC, Bicknell R. Tissue and plasma expression of the angiogenic peptide adrenomedullin in breast cancer. *Br J Cancer.* 2003;89:1927-33

²⁴⁵ Baranello C, Mariani M, Andreoli M, Fanelli M, Martinelli E, Ferrandina G, et al. Adrenomedullin in ovarian cancer: foe in vitro and friend in vivo? *PLoS One*. 2012;7(7):e40678.

²⁴⁶ Nakata T, Seki N, Miwa S, Kobayashi A, Soeda J, Nimura Y, et al. Identification of genes associated with multiple nodules in hepatocellular carcinoma using cDNA microarray: multicentric occurrence or intrahepatic metastasis? *Hepatogastroenterology*. 2008;55(84):865-72.

²⁴⁷ Uemura M, Yamamoto H, Takemasa I, Mimori K, Mizushima T, Ikeda M, et al. Hypoxia-inducible adrenomedullin in colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2011 Feb;31(2):507-14.

²⁴⁸ Belting M, Almgren P, Manjer J, Hedblad B, Struck J, Wang TJ, et al. Vasoactive peptides with angiogenesis-regulating activity predict cancer risk in males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012;21(3):513-22.