

**RELACIÓN DE CITOCINAS Y
BIOMARCADORES COMO
PATRONES DE INFLAMACIÓN
Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA
ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD
(Trabajo de Investigación Septiembre 2011)**

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

(DEPARTAMENT DE MEDICINA)

BEATRIZ MONTULL VEIGA

Director: DR. JUAN RUIZ MANZANO
(Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona)

Co-Directora: DRA. ROSARIO MENÉNEZ VILLANUEVA
(Hospital Universitario y Politécnico la Fe. Valencia)



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

ÍNDICE

ABREVIATURAS	_____	pág. 3
RESUMEN	_____	pág. 4
INTRODUCCIÓN	_____	pág. 5
HIPÓTESIS DEL ESTUDIO	_____	pág. 8
OBJETIVOS	_____	pág. 8
METODOLOGÍA	_____	pág. 9
RESULTADOS	_____	pág. 15
DISCUSIÓN	_____	pág. 18
TABLAS DESCRIPTIVAS	_____	pág. 23
ANEXOS	_____	pág. 37
BIBLIOGRAFÍA	_____	pág. 38

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

ABREVIATURAS

- **APACHE II:** Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
- **BAL:** Lavado broncoalveolar
- **BAS:** Broncoaspirado
- **E:** Especificidad
- **EPOC:** Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
- **GOT / AST:** Aspartato-aminotransferasa
- **GPT / ALT :** Alanino-aminotransferasa
- **IL:** Interleucina
- **NAC:** Neumonía adquirida en la comunidad
- **PAAF:** Punción aspirativa transtorácica
- **PCR:** Proteína C reactiva
- **PCT:** Procalcitonina
- **PSB:** Pulmonary Microbiology Brush (cepillado bronquial)
- **PSI:** Pneumonia Severity Index (índice/escala de gravedad en las neumonías)
- **S:** Sensibilidad
- **TAC:** Tomografía axial computerizada
- **TNF α :** Factor de necrosis tumoral alfa
- **UCI:** Unidad cuidados intensivos
- **VIH:** Virus inmunodeficiencia humano
- **VPN:** Valor predictivo negativo
- **VPP:** Valor predictivo positivo

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ RESUMEN

Antecedentes: La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es una enfermedad respiratoria infecciosa de alta prevalencia y elevada mortalidad que desencadena inflamación sistémica.

Objetivos: Conocer la respuesta inflamatoria (biomarcadores y citocinas) con valor diagnóstico según etiología (bacterias, virus, mixta), riesgo de presentar bacteriemia y los distintos “patrones de inflamación”.

Métodos: Estudio prospectivo observacional multicéntrico de pacientes ingresados. Se estudiaron los biomarcadores (PCR y PCT) analizados por inmunoluminometría e inmunoturbidimetría, y citocinas (IL-6, IL-8, IL-10 y TNF α) analizadas por ELISA.

Resultados: Se alcanzó diagnóstico etiológico en 295 pacientes (44%), 48 casos (7%) con bacteriemia. Los mayores niveles de PCR, PCT y citocinas se encuentran en los casos de microorganismo conocido, sobre todo en presencia de bacteriemia. Existen diferentes “patrones” de expresión de inflamación según la etiología específica: las bacterias atípicas (baja PCT y elevados IL-6), *S. pneumoniae* (alta PCT), *L. pneumophila* (elevada PCR), Enterobacterias (elevada IL-8). Encontramos un punto de corte para la PCT ≥ 0.36 mg/dl de elevada S y VPN para predecir bacteriemia. El modelo multivariado de distancias euclídeas mostró la existencia de diferentes grupos de microorganismos con un “patrón” de respuesta inflamatoria característico, presentando mayor inflamación el *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*.

Conclusiones: Existe mayor respuesta inflamatoria (PCR, PCT y citocinas) en las NAC con identificación del microorganismo en la bacteriemia. La PCT es un buen marcador de infección bacteriana y sepsis por su elevada E y VPN. Existen diferente expresión de citocinas y biomarcadores de respuesta inflamatoria según la etiología específica, que se encuentra incrementada en presencia de bacteriemia.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ INTRODUCCIÓN

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es la enfermedad respiratoria infecciosa más frecuente que afecta de forma anual del 3 al 5% de la población adulta mundial. Con una mortalidad en torno 5-15% de los hospitalizados, aumenta hasta el 20-30% en aquellos pacientes que requieren ingreso en la UCI¹.

Es conocido que el pulmón es uno de los órganos más susceptible de padecer infecciones debido a su amplio contacto con las diferentes partículas y microorganismos del aire ambiente. La inmunidad innata está formada por las barreras estructurales, como el epitelio pulmonar, el aclaramiento ciliar, la secreción de moco y los macrófagos alveolares, los cuales son capaces de destruir y expulsar del espacio aéreo a los agentes patógenos evitando así la progresión hacia la invasión tisular. Cuando esta respuesta se ve superada, la propia infección provoca la puesta en marcha de otra tipo de respuesta específica inflamatoria que comprende diferentes moléculas (citocinas y biomarcadores) a nivel local (pulmón) y sistémico, todo ello repercutiendo en el desarrollo, pronóstico y evolución de la infección.

La respuesta inflamatoria en el contexto de la NAC es necesaria y útil para la defensa del organismo frente al ataque de los microorganismos patógenos. La magnitud de dicha respuesta debe ser proporcionada y permanecer adecuadamente compartimentada para evitar el daño tisular y los efectos sistémicos de la misma, como son la disfunción miocárdica, la hipotensión, la hipoperfusión de órganos vitales o la acidosis láctica, que en conjunto pueden llevar a un aumento de la mortalidad².

En los últimos años, la investigación en el campo de las infecciones pulmonares y más concretamente en la NAC, se han encaminado al conocimiento de diversos marcadores y moléculas que demuestren la presencia de infección y como factores de control evolutivo y pronóstico. Los reactantes de fase aguda más utilizados en la actualidad son la Proteína C reactiva (PCR) y la Procalcitonina (PCT). La PCR es una proteína de fase aguda, sintetizada en el hígado, y cuya producción está estimulada por la Interleucina 6 (IL-6). Es un marcador sensible pero inespecífico, útil en el diagnóstico precoz de

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

inflamación en la infección. Aunque sus niveles pueden verse elevados en el postparto, politraumatismo, postcirugía o con tratamiento glucocorticoide o inmunosupresor. Estas características hacen que este marcador sea inespecífico. Niveles elevados mantenidos después de iniciar tratamiento sugieren mala evolución, y se podría utilizar como marcador pronóstico. Niveles bajos asociarían elevado valor predictivo negativo (VPN) e indicarían menor gravedad. Por otro lado, la PCT se trata de un precursor de la hormona calcitonina, sintetizada en el tiroides. Es un marcador más precoz y específico que se eleva de forma inmediata en las infecciones bacterianas (neumonía, meningitis o sepsis), y se mantiene con niveles bajos en las infecciones de etiología vírica, lo que supone un alto VPN. A pesar de ello, puede cursar con falsos positivos, como en el carcinoma medular de tiroides, carcinoma bronquial de célula pequeña o politraumatismos, o falsos negativos como en las infecciones muy localizadas, de microorganismos intracelulares o tras la toma de antibiótico correcto.

En la última década aparece como nuevo campo a explorar la respuesta inflamatoria basada en las citocinas. Las relaciones entre su equilibrio y desbalance explicarían la evolución del proceso de la infección, la respuesta al tratamiento e incluso se relacionaría con la presencia de diferentes microorganismos causales (etiología) de la NAC o la presencia de extensión sistémica (bacteriemia). Puntos que actualmente distan de tener una respuesta pero que ha motivado la realización del estudio que se presenta. Los estudios de los que disponemos hasta ahora, se basan en el análisis de estas moléculas en suero (miden la respuesta inflamatoria a nivel sistémico) y otros fluídos como en el lavado broncoalveolar (BAL), que miden la respuesta inflamatoria de forma local en el pulmón, relacionando los niveles elevados de TNF α , IL-1 e IL-8 con la etiología, gravedad y pronóstico del proceso. Así, se ha podido determinar que el TNF α y las citocinas IL-1, IL-6 e IL-8, son moléculas proinflamatorias tempranas, mientras que la IL-10 se ha demostrado como mediador antiinflamatorio.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

La etiología más prevalente causante de la NAC es el *neumococco*, seguida de las bacterias atípicas (*Mycoplasma* y *virus*), bacilos gram negativos y la *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes de riesgo predisponentes a esta infección. Se ha demostrado, que los síntomas, signos, escalas pronósticas clínicas y marcadores inflamatorios (leucocitos, desviación neutrófila, fibrinógeno...etc), de forma individual, son de poca ayuda para definir el agente etiológico en la NAC. La elevación de biomarcadores y/o combinación de diferentes citocinas podrían tener un efecto aditivo, inhibitorio o sinérgico, según el agente que desencadene la respuesta inflamatoria. El estudio de esos “patrones” de respuesta podría ser de utilidad a la hora de reconocer en el futuro el agente causal, evolución y pronóstico de dicha infección. Esta nueva hipótesis planteada continúa siendo objeto de numerosos estudios, que pretenden hallar marcadores rápidos y no excesivamente caros a la hora de analizar. Supondrían un avance a la hora de la interpretación diagnóstica, valoración del riesgo y pronóstico, lo que contribuiría en la toma de decisiones.

El objetivo principal de este estudio clínico, multicéntrico, prospectivo, es conocer la respuesta inflamatoria en relación con la etiología causal de la NAC. Además de analizar el perfil inflamatorio de dicha respuesta y su utilidad en la valoración del diagnóstico y asociación con la diseminación sistémica de la infección.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ **HIPÓTESIS DEL TRABAJO**

La medición de la intensidad de la respuesta inflamatoria sistémica (citocinas) y marcadores biológicos (PCR-PCT), podrían ser de utilidad en los pacientes con NAC para la valoración diagnóstica, diferenciación etiológica específica (bacterias, virus, mixta) y conocimiento de los distintos “patrones de inflamación” en la infección. La presencia de bacteriemia se asociaría a una mayor respuesta inflamatoria.

➤ **OBJETIVOS:**

Valoración del patrón de respuesta inflamatoria en suero (biomarcadores y citocinas):

- 1- Relación con la etiología específica de la NAC.
- 2- Presencia de bacteriemia.
- 3- Utilidad en el diagnóstico de la NAC.
- 4- Conocer y entender la respuesta inflamatoria del huésped en la NAC.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO: Prospectivo observacional multicéntrico.

LUGAR Y POBLACIÓN A ESTUDIO: Pacientes ingresados en sala de hospitalización de Neumología, con diagnóstico de NAC. Se recogieron datos de 2 hospitales terciarios (Hospital Universitario la FE de Valencia y el Hospital Clínic de Barcelona) en un período comprendido entre Mayo 2005 a Junio 2006.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Aparición de un nuevo infiltrado en el estudio radiográfico
- Al menos 2 síntomas clínicos compatibles con el diagnóstico de NAC:
 - temperatura $>38^{\circ}\text{C}$
 - tos productiva
 - dolor torácico
 - estertores pulmonares a la auscultación.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Ingreso previo hospitalario en los últimos 15 días.
- Tratamiento inmunosupresor o esteroideo (>15 mg/día de Prednisona o equivalente).
- Leucopenia < 1.000 cél./mm³ o neutropenia < 500 cél./mm³ (excepto si estos hallazgos son debidos a la propia NAC).
- Infección por VIH, con cifras de linfocitos CD4 inferiores a 100.
- Pacientes no subsidiarios de reanimación.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de ambos hospitales. El paciente o su representante legal firmaron el consentimiento informado por escrito.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS:

En el momento de inclusión en el estudio se recogieron los siguientes datos:

-Datos personales: nombre, apellidos, número de la seguridad social (NSS), número historia clínica (NHC).

-Edad y sexo

-Historia de tabaquismo

-Historia de hábito enólico

-Vacunación previa (gripe y *neumococco*)

-Tratamiento antibiótico previo (en el último mes)

-Comorbilidades asociadas: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad cardiaca, renal, neurológica, hepática o digestiva.

-Tratamiento con corticoides orales o inhalados.

-Síntomas clínicos: características de la tos, expectoración, dolor de tipo pleurítico, disnea, confusión.

-Signos clínicos: temperatura, frecuencia cardiaca y respiratoria, presión arterial sistólica y diastólica y presencia de estertores).

-Datos analíticos: recuento leucocitario, sodio, potasio, creatinina sérica, urea, enzimas hepáticas (GOT, GPT) y gasometría arterial. Incluye la determinación de PCR, PCT y Citocinas en el primer día de ingreso hospitalario.

-Datos radiográficos: condensación, cavitación o derrame pleural.

-Diagnóstico al ingreso.

-Puntuación en Escalas Pronósticas: FINE / PSI [Anexo I]

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

Algunas de las variables del estudio se definen de la como:

*ALCOHOLISMO (antecedente personal): según la OMS (Organización Mundial de la Salud), el consumo de 70 gr. de alcohol diarios para el hombre y 50 g para la mujer.

*NEUMONÍA DEFINITIVA (según aislamiento microbiológico):

- 1 hemocultivo positivo
- líquido pleural o punción aspirativa transtorácica positivo (PAAF).
- IgG *C. pneumoniae* (IgG>512), *C. psittaci* (IgG<1/64), *L. pneumophila* >1/128, *C. burnetti* 1/80 y virus respiratorios (*Influenza A y B*, *Parainfluenza 1 a 3*, *Virus respiratorio sincitial*, *Adenovirus*; IgM *C. pneumoniae* >1/32, *C. burnetti* >1/80).
- Antígenos urinarios positivos por *L. pneumophila* o *S. pneumoniae*.
- Aislamiento en esputo: valorar validez del esputo (>10 cél. Epiteliales y > 25 leucocitos por campo a 100 aumentos. Tinción de Gram. Aislamiento en medios de cultivo: agar sangre, agar chocolate, BCYE-Tioglicato, técnica inmunofluorescencia directa para la *L pneumophila*.
- BAS >10⁵ ufc / ml, PSB >10³ ufc / ml, BAL >10⁴ ufc / ml.
- Aislamiento de *Aspergillus spp.* En concomitancia con imágenes en el TAC y/o confirmación histológica.
- Resultado positivo de diagnóstico mediante *microarrays* (Virus).

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

OBTENCIÓN Y PROCESADO DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS:

-**HEMOCULTIVOS:** análisis de las muestras en suero por el método bioMerieux, Marcy l'Etoile, Francia.

-**ANTÍGENOS URINARIOS PARA *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* serogrupo 1:** prueba de inmunocromatografía (BINAX, Portland, Maine, USA)

-**ANTICUERPOS EN SUERO** de la fase aguda y convalecencia para la *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Legionella pneumophila*: se considera como diagnóstico la seroconversión o aumento del título de anticuerpos (por cuatro veces) entre los niveles de anticuerpos de la fase aguda a la convaleciente para la *C. pneumoniae*: IgM >1:32 a IgG >1:512, *M. pneumoniae*.: IgM >1:80 a IgG >1:160, la *C. burnetii*: IgM >1:80 a IgG >1:160.

-**FROTIS FARÍNGEO:** detección de ácidos nucleicos víricos por la técnica de biología molecular ProDetect BCS RV CHIP (bcs Biotech s.p.A, Italia) capaz de detectar diferentes virus: *Influenzavirus A y B*: gen NS, *Virus respiratorio sincitial*: gen NS2, *Parainfluenzavirus I, II, III*: gen H, *Coronavirus*: fragmento BNI-1 y el *Adenovirus*: gen H.

-**CULTIVO DE ESPUTO:** La validez del esputo se demuestra si se obtiene menos de 10 células epiteliales y más de 25 leucocitos por campo a 100 aumentos en el microscopio.

La tinción de Gram se valora si a través del microscopio se visualiza la muestra a diferentes aumentos y la presencia de microorganismos Gram positivos o negativos.

La etiología infecciosa se establece en base al aislamiento en medios de cultivo: Agar sangre (AS), Agar chocolate (AC) y BCYE - Tioglicolato (TG). Se aplica la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD) para la detección de *Legionella Pneumophila*.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

-DETERMINACIÓN MARCADORES INFLAMACIÓN EN SUERO (PCR, PCT y CITOCINAS: IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 y TNF α): Se extrae muestra sanguínea a las 24 horas del ingreso hospitalario, se centrifugan, congelar a -80°C y se codifican hasta ser analizadas.

La PCR se determinó con el método inmunoturbidimétrico utilizando un test comercial (Bayer diagnostics, Leverkusen , Germany) con el Advia 2400.

La PCT: se determinó con la técnica inmunoluminométrica (Liaison Bham PCT, DiaSorin Saluggia, Italia) con límites de detección 0.3 ng/ml.

La determinación de IL-6, IL-8, IL-10 y TNF α se realiza con la técnica comercial de enzimoimmunoensayo (BioSource, Nevelles, Belgium). Los límites de detección fueron:

-TNF α : 2 pg/ml

-IL-6: 2 pg/ml

-IL-8: 0.7 pg/ml

-IL-10: 1 pg/ml

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 15.0 software.

Se realizó un análisis descriptivo con los datos recogidos del paciente.

Para el análisis de las variables cualitativas se aplicó el Test de Chi-Cuadrado y las tablas de contingencia para las variables dicotómicas.

Para el análisis de las variables cuantitativas continuas (biomarcadores y citocinas), se aplicó el test T-Student para análisis de medias, y el Test de U-Mann-Whitney para medianas y desviación típica. La correlación fue analizada usando el análisis de correlación de Spearman's. Se consideró como significativo un valor $p < 0.05$.

Los microorganismos fueron analizados individualmente y en base a sus características microbiológicas según los siguientes grupos: sin etiología, bacterias típicas, y este grupo subdividido a su vez en etiología específica que incluyó al *S. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, bacterias atípicas, virus y etiología mixta (virus-bacterias).

Los gráficos fueron generados mediante un análisis de conglomerados jerárquicos (HCA) y un escalamiento multidimensional (MDS) de la matriz de distancias construida en base a las diferencias significativas observadas en la comparación por pares de los distintos microorganismos, mediante la U de Mann-Whitney.

Se garantizó la confidencialidad de datos según el título II, artículo 8 de la LOARTAD (ley orgánica 5/1992 de regulación del tratamiento automatizado de los datos de carácter personal).

➤ IMPLICACIONES ÉTICAS

La inclusión en el estudio no supuso cambios en la atención habitual ni en el tratamiento del paciente.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ RESULTADOS

1. Características de la Población

Durante el estudio se incluyó un total de 685 pacientes con diagnóstico de NAC. El 65% fueron hombres con una edad media comprendida en torno a los 72 (58-79) años. Las comorbilidades que mayoritariamente se asociaron fueron la diabetes mellitus, insuficiencia cardiaca y enfermedades respiratorias, entre las que destacan el haber padecido previamente una infección de vías altas respiratorias (31.4%) y EPOC (19.7%). Además, se objetiva una prevalencia elevada en el consumo de tabaco (23.6%) y de tratamiento con corticoides inhalados (20.6%). El resto de las características demográficas de la población estudiada se incluyen en la **Tabla 1**.

Al diagnóstico, un 22.2% se presentaban con afectación multilobar y una puntuación en la escala del PSI (Pneumonia Severity Index) de nivel 3 (22.5%) y 4 (36.4%). **Tabla 2**

2. Etiología

En el estudio de la etiología, más de la mitad de la población estudiada (56%) quedó sin identificar el agente causal. Se alcanzó un diagnóstico etiológico en 295 pacientes (44%), con una prevalencia de infección por *S. pneumoniae* 87 (12,7 %), *L. pneumophila* 24 (3,5%), *P. aeruginosa* 17 (2,5%), *H. influenzae* 14 (2%), *S. aureus* 12 (1,8%), *M. pneumoniae* 12 (1,8%), *C. burnetti* 8 (1,2%), virus 12 (1,8%), de los cuales 9 (1,3%) fueron *Influenzavirus* e infecciones mixtas por más de un tipo de bacteria 29 (4,2%). **Tabla 3**

Hubo 48 casos (7%) con diagnóstico de bacteriemia, se consideró el crecimiento de *S. cogaulasa negativo* como agente contaminante. 34 de los aislamientos fueron causados por el por *S. pneumoniae*, 6 mixtas por varias bacterias, principalmente *S. pneumoniae*, 7 por enterobacterias, 2 por *H. influenzae*, 2 por *S. aureus*, 1 por *P. aeruginosa*, 1 por *S. pyogenes* y 1 por *Acinetobacter baumannii*. **Tabla 4**

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

3. Respuesta inflamatoria (biomarcadores y citocinas)

La **Tabla 5** muestra los diferentes resultados de PCR, PCT y citocinas (medias y desviación típica), obtenidos al analizar la respuesta inflamatoria al primer día de ingreso de los pacientes con diagnóstico NAC.

3.1 Biomarcadores (PCR y PCT):

Al analizar el patrón de respuesta inflamatoria se aprecia niveles más elevados de PCR y PCT en las NAC con etiología conocida en contraposición de aquellas en las que no existe diagnóstico: PCR (18.2 vs 13.7) ($p=0.00$) y PCT (0.86 vs 0.37) ($p=0.00$). En los casos de bacteriemia asociada, se objetiva unos niveles de PCR aún más elevados (23.3 vs 16.1) ($p=0.002$), siendo la PCT el biomarcador que mejor discrimina su presencia: (3.39 vs 0.52) ($p=0.000$) (**Tabla 6**). Al realizar la comparación según una etiología concreta, se objetiva que la PCR es el biomarcador que más se eleva cuando la *L. pneumophila* es el microorganismo aislado. En cambio, los niveles de PCT se encuentran más elevados en el grupo de las bacterias típicas, sobre todo con el *S. pneumoniae*, siendo menores en el de las bacterias atípicas (1.12 vs 0.19) ($p=0.000$) o Virus (1.12 vs 0.24) ($p=0.003$) (**Tabla 7**).

Se realizó un análisis de la PCT en la curva ROC, presentando un área bajo la curva para predecir bacteriemia de 0.70. Con un punto de corte de 0.36 ng/dl se obtiene una sensibilidad (S): 85%, especificidad (E): 42%, valor predictivo positivo (VPP): 9% y valor predictivo negativo (VPN): 98%. (**Tabla 8**).

Posteriormente se realizó otra curva ROC para analizar la PCT y valor predictivo para diferenciar bacterias-virus, obteniendo un área bajo la curva: 0.66. Con un punto de corte para la PCT de 0.275 ng/dl se obtiene una S: 83%, E: 41%, VPP: 37% y VPN: 85% (**Tabla 8**).

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

3.2 Citocinas (TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 e IL-10):

Las citocinas que muestran una diferencia significativa, cuando la etiología es conocida, es la IL-6 (105 vs 71) ($p=0.000$) (**Tabla 9**). Así mismo ocurre en la bacteriemia donde se aísla un microorganismo causal, con una IL-6 (173 vs 95) ($p=0.012$) (**Tabla 10**). Se realizó un análisis de la IL-6 en la curva ROC, presentando un área bajo la curva para predecir bacteriemia de 0.65. Con un punto de corte de 60.5 pg/ml se obtiene una S: 80%, E: 41%, VPP: 8.4% y elevado VPN: 97% (**Tabla 8**).

Más específicamente, al comparar bacterias típicas frente atípicas existen diferencias significativas con la IL-6 (144 vs 43) ($p=0.011$). No así los virus que presentan mayor TNF α : (29 vs 14) ($p=0.028$). A destacar el aumento significativo de los niveles de IL-8 en el grupo de las NAC por Enterobacterias (**Tabla 11**).

En el grupo de los Virus, y más concretamente las NAC causadas por *Influenza*, presentan niveles menores de TNF α en comparación con otros microorganismos (**Tabla 12**).

Las diferencias encontradas en la activación de los diferentes biomarcadores y citocinas dependiente de cada microorganismo causal se muestran en la **Tabla 13**. Cuyos resultados se muestran en el gráfico del modelo multivariado de las distancias Euclídeas (**Gráfico 1 y 2**). Así, nos encontramos con que los microorganismos que presentan mayores distancias Euclídeas son *S. pneumoniae*, *L. pneumophila* y Enterobacterias. Existirían otras agrupaciones de microorganismos con menor y diferente patrón inflamatorio, un primer grupo compuesto por *M. pneumonia*, *C. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Y un segundo grupo que engloba al *H. influenzae*, *C. burnetti* e *Influenzavirus*. Finalmente, destacaría el grupo de las NAC sin etiología conocida que se caracterizaría por la menor activación de marcadores inflamatorios.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio demuestran que: 1) existe una mayor elevación de niveles de biomarcadores y citocinas en los casos en los que se identifica el microorganismo y en presencia de bacteriemia, y 2) La expresión de inflamación sistémica es diferente según el microorganismo causal: la infección por microorganismos típicos, sobre todo el *S. pneumoniae*, elevan los niveles de PCT; la *L. pneumophila* eleva los niveles de PCR y las Enterobacterias aumentan los niveles de IL-8. En el resto de aislamientos se objetiva diferentes “patrones” de inflamación.

La investigación en el campo de las infecciones pulmonares, más concretamente en la NAC, de la PCT, PCR y citocinas se ha incrementado de forma exponencial en la última década. El objetivo de los numerosos estudios es la búsqueda de marcadores que sean rápidos, no excesivamente caros y de fácil aplicación, que ayuden al clínico a realizar un diagnóstico de infección y de gravedad¹⁵.

Los primeros estudios englobaban a la PCR y la PCT, cuyos niveles reflejan la presencia de inflamación e infección. Posteriormente, a finales de la década de los 80, se describieron las moléculas TNF α y las citocinas IL-1 e IL-6. Su estudio es complejo debido a que su determinación es un proceso caro por su corta vida media plasmática, existen en muy bajas concentraciones (microgramos), la presencia de factores bloqueantes que dificultan su análisis, la gran variabilidad y poca especificidad².

Biomarcadores y Citocinas en el diagnóstico de infección / diseminación bacteriana:

Una línea muy activa de investigación ha intentado relacionar estos marcadores con la gravedad. Así tanto *Antunes et al.* en 2002 como *Kolsuz et al.* en 2003, objetivaron que la IL-6 se asociaba con NAC de mayor gravedad¹⁴⁻¹⁶. Posteriormente, han aparecido nuevos estudios como el de *Igonin et al.* en el cual asocia el aumento de IL-6 con peor respuesta al tratamiento antibiótico y encuentra como significativas a la PCR y otras citocinas (IL-8 e IL-10) en la NAC grave⁴. *Kellum et al.* en 2007, objetivó que la elevación de inflamación (IL-6 e IL-10) se asociaba con sepsis y mayor gravedad, y dada

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

la variabilidad de la respuesta inflamatoria, agrupa a los pacientes según la respuesta en excesiva/alta, media o baja. Además observa que los niveles se mantienen elevados la primera semana para ir descendiendo progresivamente a lo largo del mes hasta su nivel basal⁸. En los dos últimos años han aparecido nuevos estudios: *Manti et al.* y *Martínez et al.* en 2010 que objetivan que las NAC de mayor gravedad y peor evolución (mayor mortalidad) son las que se presentan con niveles elevados de IL-10 e IL-6. *Martínez et al.* encuentra además que se asocia este perfil inflamatorio con otros factores predisponentes para gravedad como la presencia de confusión, o signos de hipotensión, bacteriemia y derrame pleural⁵. Además, *Manti* observó la utilidad de la PCR como marcador de inflamación inicial en la NAC, determinante de la gravedad de la infección, el fallo terapéutico temprano y tardío.

En nuestro estudio encontramos que los pacientes con NAC en los que se ha identificado un microorganismo, la respuesta inflamatoria es mayor, presentando valores de PCR (18.2 vs 13.7) ($p=0.00$) y PCT (0.86 vs 0.37) ($p=0.00$). En presencia de bacteriemia los niveles de PCR aún fueron más elevados (23.3 vs 16.1) ($p=0.002$), siendo el aumento de la PCT el más destacado (3.39 vs 0.52, $p=0.000$). Para predecir bacteriemia el estudio de la PCT en la curva ROC presentó un área bajo la curva de 0.70, y con un punto de corte de 0.36 $\mu\text{gr/L}$ se obtuvo una elevada sensibilidad (S): 85% y un alto valor predictivo negativo (VPN) del 98%. En esta línea, *Müller et al.* en 2010 utilizaron un punto de corte diferente de PCT $>0.25 \mu\text{gr/L}$, obtuvo alta sensibilidad (96%) y elevado VPN para predecir bacteriemia. Diversos estudios han intentado proponer puntos de corte de niveles de PCT para integrarlo en algoritmos de manejo diagnóstico (necesidad de realizar hemocultivos)³² o de tratamiento (uso de antibiótico y respuesta)²¹ hasta ahora no validados por otros grupos. Así *Manti et al.* proponen que la PCT sería un marcador más específico de infección bacteriana y sepsis, ya que presenta mayor sensibilidad, especificidad y elevado VPN³. Nuestro estudio propone un punto de corte diferente al de *Müller*, ligeramente superior pero con un alto VPN que precisaría de más estudios para ser validado³².

En lo referente a la inflamación sistémica (expresión de citocinas), los niveles más elevados de IL-6 (105 vs 71) ($p=0.000$) se da cuando se conoce el microorganismo causal

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

y se eleva en la bacteriemia con una IL-6 (173 vs 95) ($p=0.012$). Apenas existen en la literatura estudios de citocinas y bacteremia. Nosotros además realizamos una curva ROC para predecir bacteriemia, asumiendo un punto de corte de 60.5 pg/ml, donde se obtuvo una elevada sensibilidad: 80% y VPN: 97%.

Nuestros resultados muestran que existe mayor inflamación cuando la NAC se asocia a bacteriemia y menor cuando no se alcanza un diagnóstico etiológico. Destaca entre nuestros hallazgos, el hecho que las NAC de etiología conocida, parecen predisponer a un aumento de la respuesta inflamatoria, expresados por niveles elevados de PCR, PCT y citocinas, sobre todo si se asocian a bacteriemia, quedando así reflejada la diseminación de la infección.

Biomarcadores y Citocinas en el diagnóstico etiológico de infección/inflamación:

En más del 50% de los casos no se logra alcanzar un diagnóstico etiológico en la NAC a pesar de aplicar estudios microbiológicos. Además, es conocida la inespecificidad de los síntomas, signos, escalas pronósticas clínicas y marcadores inflamatorios (leucocitos, desviación neutrofílica, fibrinógeno... etc) para este fin.

Existen pocos estudios que investiguen la relación de la respuesta inflamatoria y la etiología específica de las NAC (6, 7, 8, 9,13). Diversos autores, como *Hedlund et al.* en el año 2000 y *Masiá et al.* en 2007, al comparar la etiología bacteriana clásica frente a las bacterias atípicas (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* y *C. burnetti*) o virus, observaron que la PCT se elevaba de forma significativa en las NAC de etiología bacteriana clásica^{9,19}. Nuestros resultados muestran que la PCT es más específico de infección por bacterias típicas versus las atípicas (1.12 vs 0.19) ($p=0.000$) y virus (1.12 vs 0.24) ($p=0.003$). Además, las bacterias típicas presentan mayor IL-6 comparado con las atípicas (144 vs 43) ($p=0.011$), y niveles más elevados de TNF α que los virus (29 vs 14) ($p=0.028$). Hay que destacar, que al analizar el grupo de los virus, el *Influenzavirus*, presenta niveles de TNF α menores respecto al resto de bacterias clásicas, lo que podría ser de utilidad en el diagnóstico diferencial de las infecciones víricas sin coinfección bacteriana.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

Al centrarnos en una etiología específica, los resultados que obtenemos son mucho más variables dado el amplio intervalo de resultados de niveles de PCR, PCT y citocinas según el microorganismo causal. Primeros estudios como el de *Fernández et al.* en 2003 concluyeron que podría existir una diferente respuesta inflamatoria según las características propias del microorganismo, al estudiar las distintas evoluciones de la NAC por *neumococo* (cuyo tratamiento antibiótico adecuado favorecería la lisis y liberación de antígenos, con aumento de la respuesta inflamatoria y elevación de IL-6 e IL-10) y por la *Legionella* (que al ser un microorganismo intracelular, favorecería una respuesta inflamatoria de menor intensidad pero más prolongada en el tiempo)⁷. En nuestro estudio destaca que los microorganismos con mayor respuesta inflamatoria son el *neumococo* y la *Legionella*. El *S. pneumoniae* presenta mayor PCT (1.71 vs 0.37) ($p=0.000$), además de niveles elevados de PCR e IL-6. En cambio, en la infección por *Legionella* la PCR es el biomarcador que más se eleva (24.9 vs 13.7) ($p=0.000$), asociado a la elevación de otros mediadores como la PCT, IL-6 y TFN α . Así, *Bruns et al.* en 2008, al estudiar la PCR no encontró relación de sus niveles con ninguna etiología en concreto, pero sí objetivó que el descenso lento de sus niveles en NAC por *Legionella* podría corresponder a la capacidad del microorganismo de residir de forma intracelular, dificultando así la respuesta inmune¹³. Finalmente, *García Vázquez et al.* observaron en su estudio de la NAC por *Legionella*, como la PCR (> 25 mg/dl) tenía un elevado VPN cuando se comparaba con otros microorganismos, demostrando ser un biomarcador rápido, barato y de fácil lectura²⁰.

En el resto de grupos de microorganismos estudiados, las diferencias entre estos marcadores inflamatorios no son significativas, a excepción de las Enterobacterias, que presentan un aumento de IL-8 al compararse con otros grupos de microorganismos gram positivos.

Es interesante comprobar cómo nuestros resultados muestran diferentes “patrones” de inflamación dependiendo de la etiología específica de la NAC, corroborando nuestra hipótesis inicial. Se realizó un estudio con un Modelo Multivariado de Distancias Euclídeas que representa de forma muy gráfica las conclusiones de este trabajo (**Gráfico 2**). Se observa de forma clara como existen 3 grupos de microorganismos que presentan

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

mayores distancias euclídeas: *S. pneumoniae*, *L. pneumophila* y Enterbacterias. Con menores distancias y agrupados por presentar similares “patrones” de respuesta inflamatoria, aparecen los grupos del *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, y otro grupo con *H. influenzae*, *C. burnetti* e *Influenzavirus*. Para finalizar, el grupo de las NAC de etiología desconocida engloba los casos con menor componente inflamatorio, lo que podría corresponder con menor carga bacteriana.

Limitaciones: no a todos los pacientes incluidos se les realizó tests microbiológicos, por lo que el grupo de NAC sin etiología podría corresponder a virus, bacterias o neumonías de etiología mixta. Además de la variabilidad de resultados de niveles de biomarcadores y citocinas.

Como conclusión, nuestro estudio muestra que existe diferente activación de la respuesta inflamatoria según el microorganismo causal, objetivando diferentes “patrones” de inflamación de mayor nivel cuando se asocia a bacteriemia. La mayor aplicación clínica sería 1) la diferenciación entre bacterias típicas vs atípicas o sin etiología; y 2) la capacidad de predecir bacteriemia, y dado el alto VPN, permitiría ahorrar en la realización de hemocultivos en presencia de menores niveles de nuestro puntos de corte de PCT, 3) la incorporación del conocimiento de los patrones de inflamación según el microorganismo causal en el manejo del paciente tanto a nivel clínico y pronóstico. No obstante se precisa de más estudios, debidamente controlados, para mayor conocimiento del mecanismo de respuesta inflamatoria, que pudieran establecer el valor real de los marcadores y puntos de corte que permitiesen su utilidad en la práctica clínica.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ TABLAS ESTADÍSTICA

TABLA 1: Características demográficas y Comorbilidades de la población estudio:

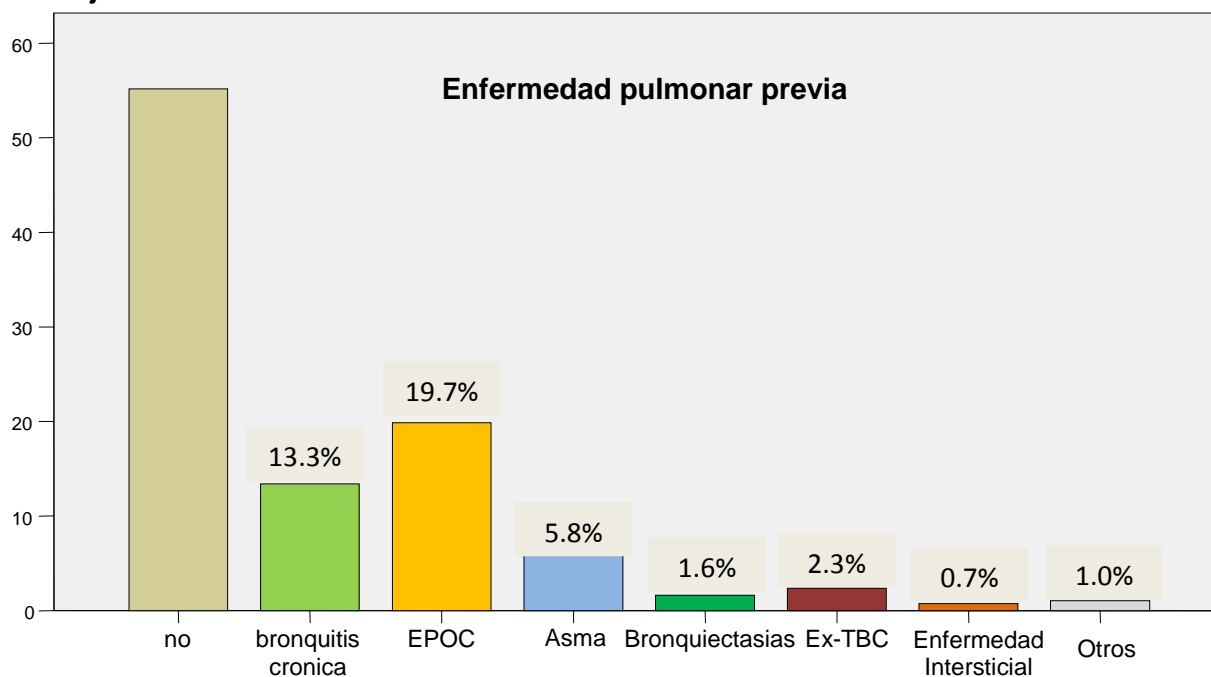
ANTECEDENTES	n	(%)
-Asilo	29	(4.2)
-Aspiración	30	(4.4)
-Tabaquismo	161	(23.5)
-Hábito enólico	65	(9.1)
-ADPV	3	(0.4)
-Inmunosupresión	6	(0.8)
-Corticoides orales	19	(2.8)
-Corticoides inhalados	141	(20.6)
-Antihistamínicos	2	(0.3)
-Vacuna neumococo	111	(16.2)
-Vacuna gripe	299	(43.6)
-Ingresos previos	145	(21.2)
-Anteced. Neumonía previa	191	(27.2)
-Anteced. Sepsis	3	(0.4)
-Anteced. Infección repetición	8	(1.2)
-Anteced. Infección vías altas	214	(31.2)

COMORBILIDADES	n	(%)
-VIH	7	(1.0)
-Diabetes Mellitus	129	(18.8)
-Insuf. Cardíaca	123	(18.0)
-Insuf. Renal crónica	36	(5.3)
-Cirrosis Hepática	23	(3.4)
-EPOC	135	(19.7)
-Enf. Neurológica	141	(20.6)
-Anteced. Neoplasia	28	(4.1)
-Neoplasia activa	7	(1.0)

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

ENFERMEDADES RESPIRATORIAS	n (%)
-EPOC	135 (19.7)
-Bronquitis crónica	91 (13.3)
-Asma	40 (5.8)
-TBC residual	16 (2.3)
-Bronquiectasias	11 (1.6)
-Enf. Intersticial	5 (0.7)
-Otros	7 (1.0)

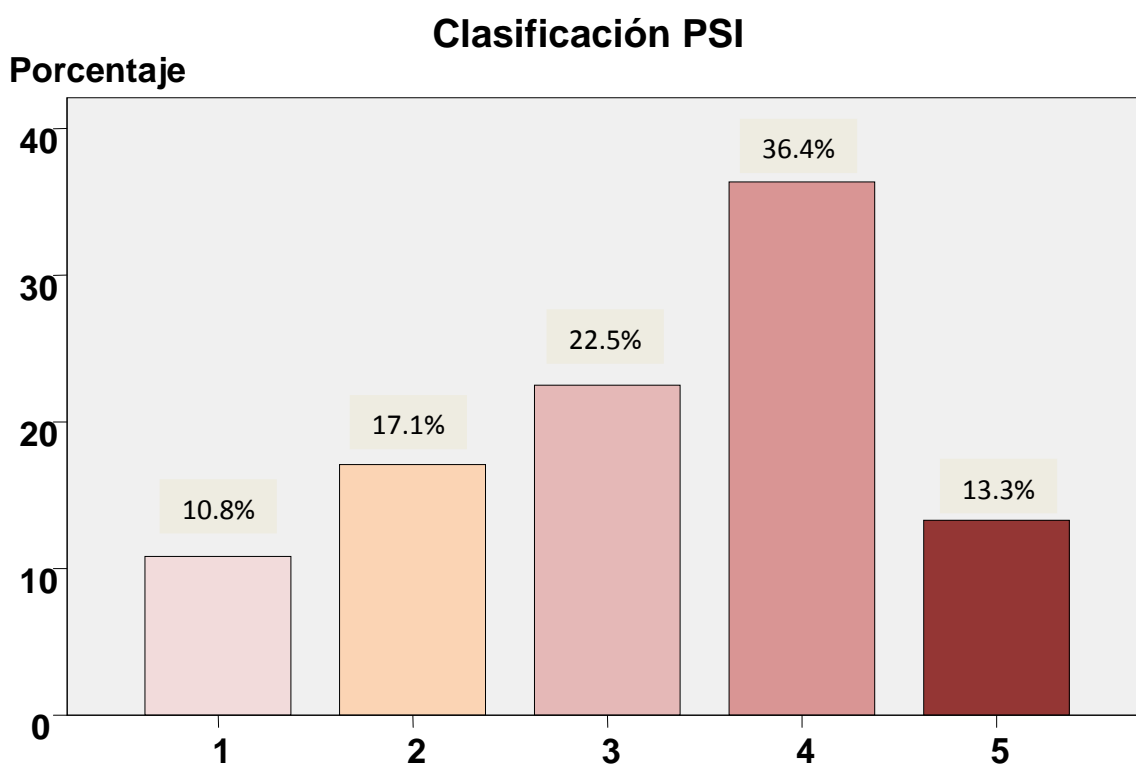
Porcentaje



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 2: Clasificación Pronóstica FINE/PSI:

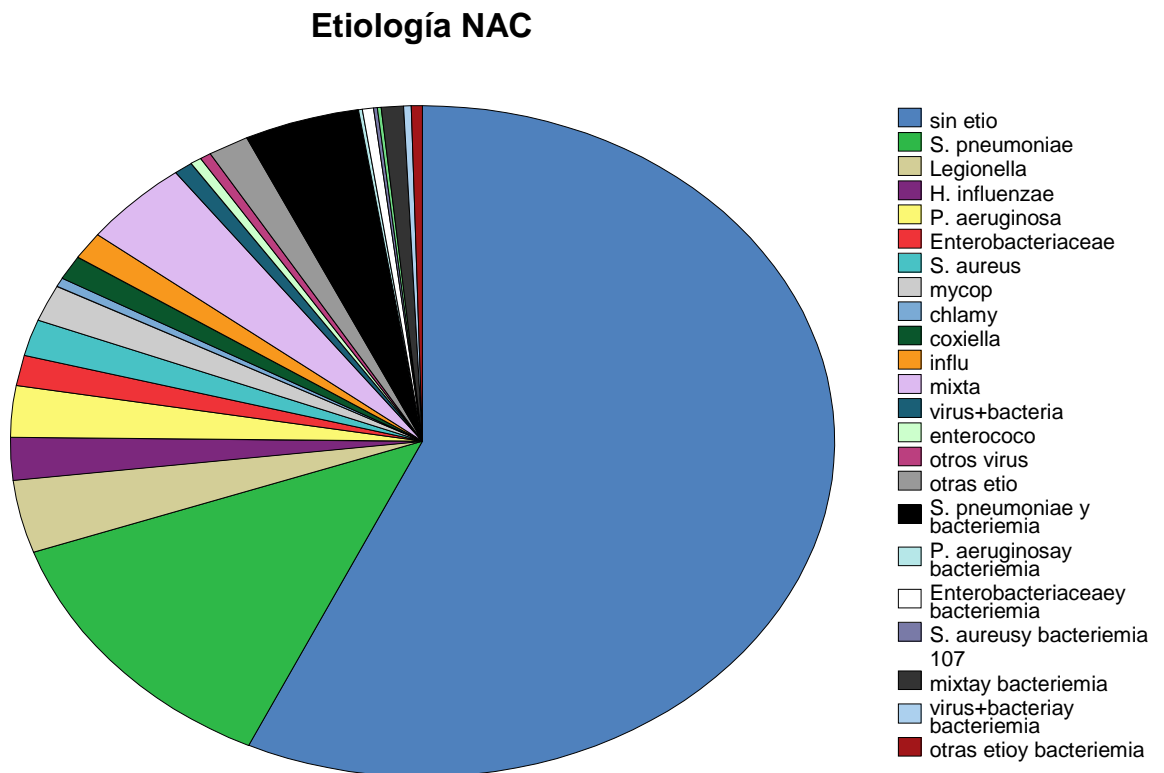
	Frecuencia	Porcentaje (%)
FINE 1	74	10.8
FINE 2	117	17.1
FINE 3	154	22.5
FINE 4	249	36.4
FINE 5	91	13.3



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 3: Datos Microbiología:

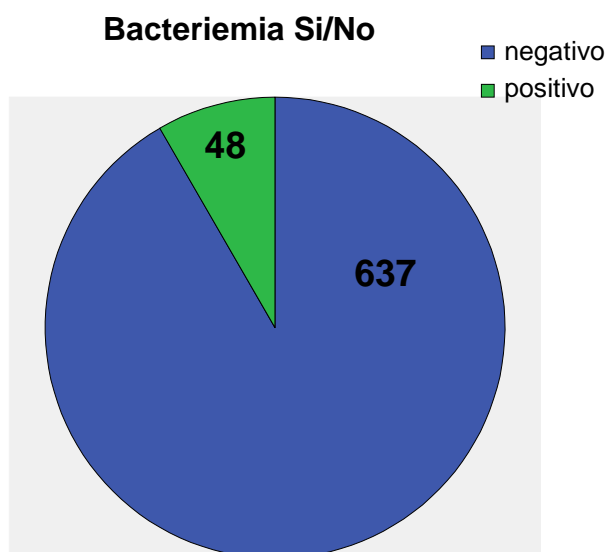
Etiología NAC	n (%)
-Sin etiología	390 (56.9)
- <i>S. pneumoniae</i>	87 (12.7)
- <i>Legionella</i>	24 (3.5)
- <i>P. aeruginosa</i>	17 (2.5)
- <i>H. influenzae</i>	14 (2.0)
- <i>S. aureus</i>	12 (1.8)
- <i>M. pneumoniae</i>	12 (1.8)
- <i>Influenzae</i>	9 (1.3)
- <i>C. pneumoniae</i>	8 (1.2)
-Mixta	29 (4.2)
- <i>Enterococco</i>	3 (0.4)
-Virus y bacterias	5 (0.7)



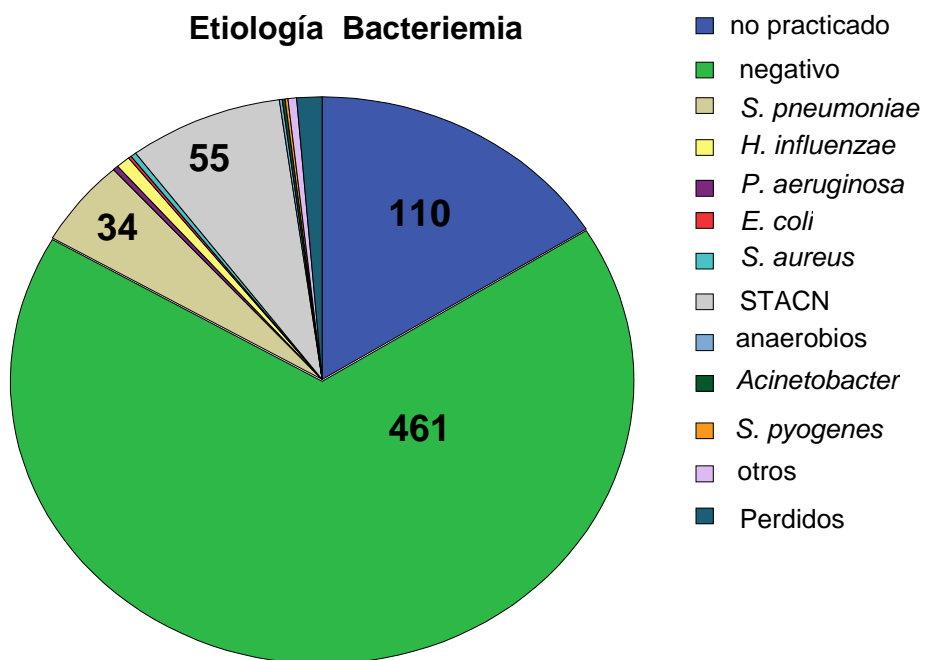
RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 4: Etiología según bacteriemia:

Etiología Bacteriemia	n (%)
- <i>S. pneumoniae</i>	34 (70.8)
-Enterobacterias	7 (15.8)
- <i>H. influenzae</i>	2 (4.1)
- <i>S. aureus</i>	2 (4.1)
- <i>P. aeruginosa</i>	1 (2.0)
- <i>S. pyogenes</i>	1 (2.0)
- <i>A. baumannii</i>	1 (2.0)



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 5: Respuesta inflamatoria (Biomarcadores y Citocinas) según Etiología:

Citocinas Etiología	PCR (mg/dl) mediana (p25-p75)	PCT (ng/ml) mediana (p25-p75)	TNFα (pg/ml) Mediana (p25-p75)	IL-1 (pg/ml) Mediana (p25-p75)	IL-6 (pg/ml) mediana (p25-p75)	IL-8 (pg/ml) mediana (p25-p75)	IL-10 (pg/ml) mediana (p25-p75)
Sin Etiología (n=390)	13.7 (7-21.9)	0.37 (0.15-1.56)	25 (15-45)	15 (3-33)	71 (25-175)	8 (2-17)	5+/-56 (0-15)
<i>S. Pneumoniae</i> (n=118)	19.9 (10.3-28.4)	1.71 (0.48-7.37)	27 (16-47)	16 (4-30)	144 (38-305)	6 (2-19)	7 (0-21)
<i>Legionella</i> (n=24)	24.9 (21.3-33.5)	0.71 (0.5-3.15)	49 (40-72)	19 (5-35)	202 (69-1548)	16 (11-35)	3 (0-12)
<i>H. Influenzae</i>(n=14)	12.5 (2.7-17.4)	0.36 (0.22-1.37)	20 (11-34)	18 (0-37)	64 (6-155)	5 (1-9)	26 (6-36)
<i>Pseudomonas</i>(n=18)	10 (7.4-13.8)	0.44 (0.14-0.62)	23 (15-45)	16 (4-29)	105 (22-223)	12 (8-20)	6 (3-12)
<i>S. aureus</i> (n=13)	16.4 (5.6-24.8)	1.37 (0.3-7.86)	41 (22-48)	22 (0-48)	125 (63-205)	10 (4-17)	8 (0-33)
Enterobacterias (n=13)	20.1 (12.6-31.5)	1.59 (0.56-8.99)	15 (12-68)	20 (9-41)	169 (58-340)	55 (14-80)	6 (0-26)
<i>Mycoplasma</i> (n=13)	13.9 (7.6-24.6)	0.34 (0.10-0.62)	28 (15-125)	23 (4-54)	77 (28-95)	18 (7-24)	4 (0-14)
<i>Chlamydia</i> (n=3)	19 (0.2-24.3)	0.23 (0.10-0.36)	36 (23-39)	31 (22-35)	26 (8-59)	1 (0-12)	17 (10-23)
<i>Coxiella</i> (n=8)	9.5 (5.5-25.3)	0.13 (0.09-0.19)	22 (21-35)	17 (7-31)	42 (25-123)	17 (9-24)	3 (1-13)
<i>Enterococcus</i> (n=3)	21.9 (20.3-29.4)	2.23 (1.11-12.4)	41 (5-55)	2 (0-9)	204 (165-1065)	16 (2-62)	2 (0-437)
<i>Influenza</i> (n=9)	15.4 (12-21.6)	0.36 (0.24-2.24)	12 (10-34)	10 (2-21)	129 (63-366)	12 (3-16)	23 (11-33)
Mixta (n=35)	18.7 (10.4-26.7)	1.15 (0.17-4.44)	23 (12-45)	23 (3-44)	95 (53-361)	7 (0-22)	6 (1-19)
Virus-Bacterias (n=7)	16.4 (8.4-26.3)	4 (0.32-7.63)	41 (14-48)	19 (16-38)	116 (66-161)	4 (0-2)	15 (3-22)

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 6: Biomarcadores (PCR/PCT) según etiología y presencia de bacteriemia:

ETIOLOGÍA	SI (mediana / Percentil 25-75)	NO (mediana / Percentil 25-75)	p
PCR	18.2 (9.7-27.3)	13.7 (7-21.9)	0.000
PCT	0.86 (0.27-4.12)	0.37 (0.15-1.56)	0.000

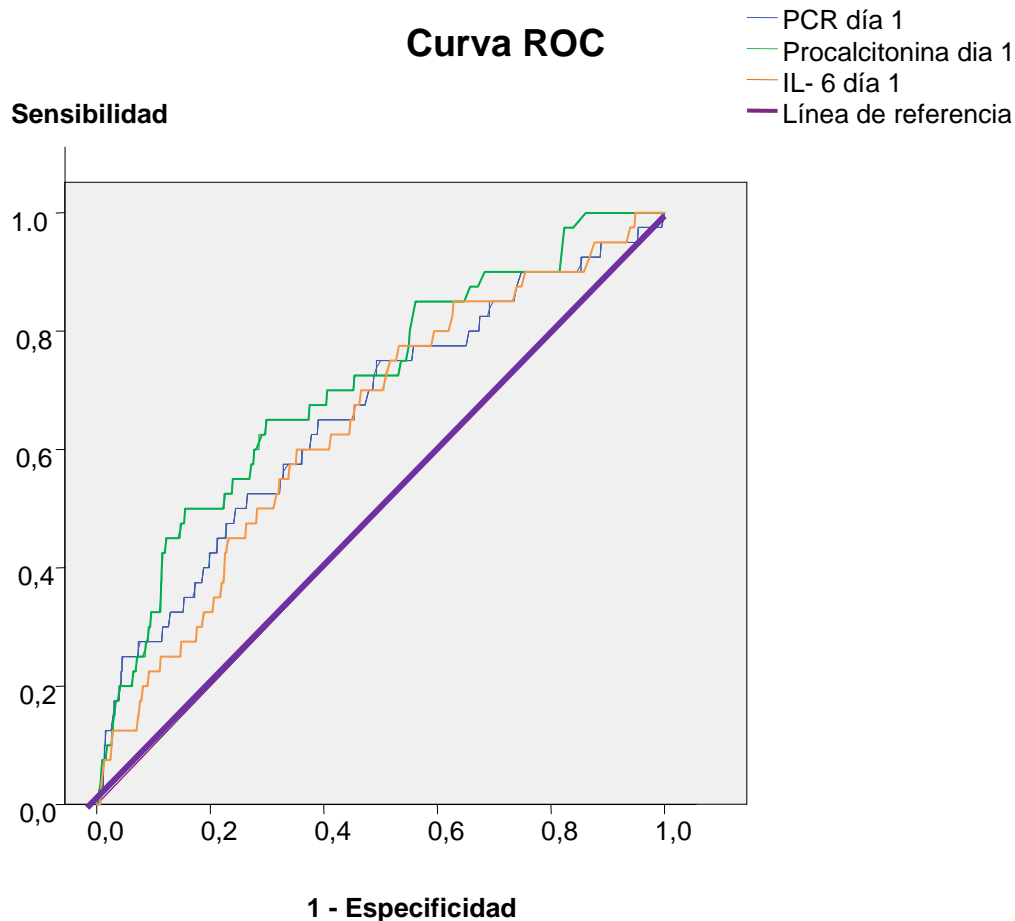
BACTERIEMIA	SÍ (mediana / Percentil 25-75)	NO (mediana / Percentil 25-75)	p
PCR	23.3 (14.9-35.1)	16.1 (8.8-24.1)	0.002
PCT	3.4 (0.40-11.16)	0.52 (0.19-2.27)	0.000

TABLA 7: PCR Y PCT diferencias estadísticas según Etiología específica:

PCR	Medianas	p	PCT	Medianas	p
<i>L. pneumophila</i>			<i>S. pneumoniae</i>		
<i>S. pneumoniae</i>	24.9 vs 13.7	0.000	<i>P. aeruginosa</i>	1.71 vs 0.44	0.016
<i>H. influenzae</i>	24.9 vs 12.5	0.001	<i>M. pneumoniae</i>	1.71 vs 0.34	0.022
<i>P. aeruginosa</i>	24.9 vs 10	0.000	<i>C. pneumoniae</i>	1.71 vs 0.13	0.017
<i>S. aureus</i>	24.9 vs 16.4	0.006	<i>C. burnetti</i>	24.9 vs 16.4	0.002
<i>M. pneumoniae</i>	24.9 vs 13.9	0.016	<i>Influenza</i>	1.71 vs 0.36	0.015
<i>C. burnetti</i>	24.9 vs 9.5	0.023			
<i>Influenza</i>	24.9 vs 15.4	0.022			

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 8: Curva ROC de la Bacteriemia y la PCT, PCR e IL-6



El valor diagnóstico para predecir bacteriemia mostró los siguientes resultados: PCR (área ROC:0.65), PCT (0.70) e IL-6 (0.65). Con un punto de corte de la PCT 0.36, se obtiene una sensibilidad 85%, especificidad 42%, valor predictivo positivo (VPP) del 9% y valor predictivo negativo (VPN) del 98%.

ÁREA BAJO LA CURVA ROC	
PCR	0.65
PCT	0.70
IL-6	0.65

Punto corte Bacteriemia	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)
PCT: 0.36	85	42	9	98
IL-6: 60.5	80	41	8.4	97
Punto corte Bacterias/Virus				
PCT: 0.26	83	41	37	85

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 9: diferencias significativas Citocinas – Etiología SÍ/NO:

ETIOLOGÍA	SÍ (mediana / Percentil 25-75)	NO (mediana / Percentil 25-75)	p
TNFα	27 (15-48)	25 (15-41)	0.117
IL-1	16 (4-32)	15 (3-33)	0.505
IL-6	105 (42-300)	71 (25-175)	0.000
IL-8	9 (3-22)	8 (2-17)	0.214
IL-10	6 (0-19)	5 (0-15)	0.169

TABLA 10: diferencias significativas Citocinas - Bacteriemia SÍ/NO:

BACTERIEMIA	SÍ (mediana / Percentil 25-75)	NO (mediana / Percentil 25-75)	p
TNFα	30 (17-62)	26 (15-45)	0.107
IL-1	16 (3-29)	16 (4-33)	0.987
IL-6	173 (77-430)	95 (34-235)	0.012
IL-8	5 (2-25)	10 (3-20)	0.775
IL-10	11 (1-36)	5 (0-17)	0.188

TABLA 11: diferencias significativas Enterobacterias – IL-8:

IL8 Enterobacterias	Medianas	p
<i>P. aeruginosa</i>	55 vs 12	0.046
<i>S. aureus</i>	55 vs 10	0.002
<i>C. pneumoniae</i>	55 vs 1	0.018
<i>Influenza</i>	55 vs 12	0.013
<i>Mixta</i>	55 vs 7	0.001
<i>Virus-bacterias</i>	55 vs 4	0.002

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 12: diferencias significativas Influenza - TNF α :

TNFα Influenza	Medianas	<i>p</i>
<i>Sin etiología</i>	12 vs 25	0.026
<i>S. pneumoniae</i>	12 vs 27	0.012
<i>L. pneumophila</i>	12 vs 49	0.000
<i>S. aureus</i>	12 vs 41	0.007
<i>M. pneumoniae</i>	12 vs 28	0.042
<i>C. pneumoniae</i>	12 vs 36	0.048
<i>Virus-bacterias</i>	12 vs 44	0.009

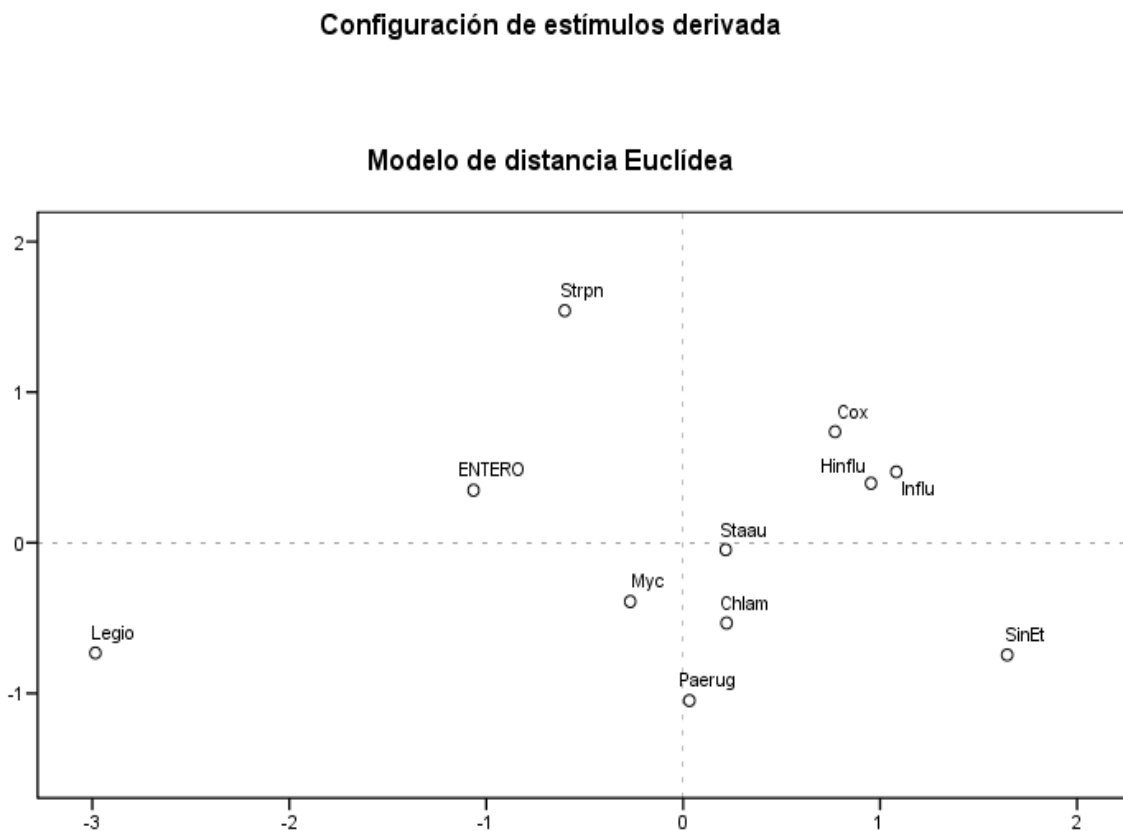
RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

TABLA 13: Comparación de resultados de Marcadores de Inflamación y grupos de Etiología en la NAC

Citocinas Etiología	PCR	PCT	TNFα	IL-6	IL-8
Sin Etiología vs Etiología	18.2 vs 13.7 <i>p</i> =0.00	0.86 vs 0.37 <i>p</i> =0.00		105 vs 71 <i>p</i> =0.000	
Bacteriemia sí vs no	23.3 vs 16.1 <i>p</i> =0.002	3.39 vs 0.52 <i>p</i> =0.000		173 vs 95 <i>p</i> =0.012	
Bacterias Típicas vs B. atípicas		1.12 vs 0.19 <i>p</i> =0.000		144 vs 43 <i>p</i> =0.011	
Bacterias Típicas Vs Virus		1.12 vs 0.24 <i>p</i> =0.003	29 vs 14 <i>p</i> =0.028		
<i>S. pneumoniae</i> Vs <i>L. pneumophila</i>	19.9 vs 24.9 <i>p</i> =0.009		27 vs 49 <i>p</i> =0.000		
<i>S. pneumoniae</i> Vs <i>P. aeruginosa</i>	19.9 vs 10 <i>p</i> =0.045	1.71 vs 0.44 <i>p</i> =0.016			
<i>S. pneumoniae</i> Vs Influenza	1.71 vs 0.36 <i>p</i> =0.015				
Enterobacterias Vs <i>Pseudomonas</i>					55 vs 12 <i>p</i> =0.046
Enterobacterias Vs <i>S. aureus</i>					55 vs 10 <i>p</i> =0.002
Enterobacterias Vs Influenza					55 vs 12 <i>p</i> =0.013

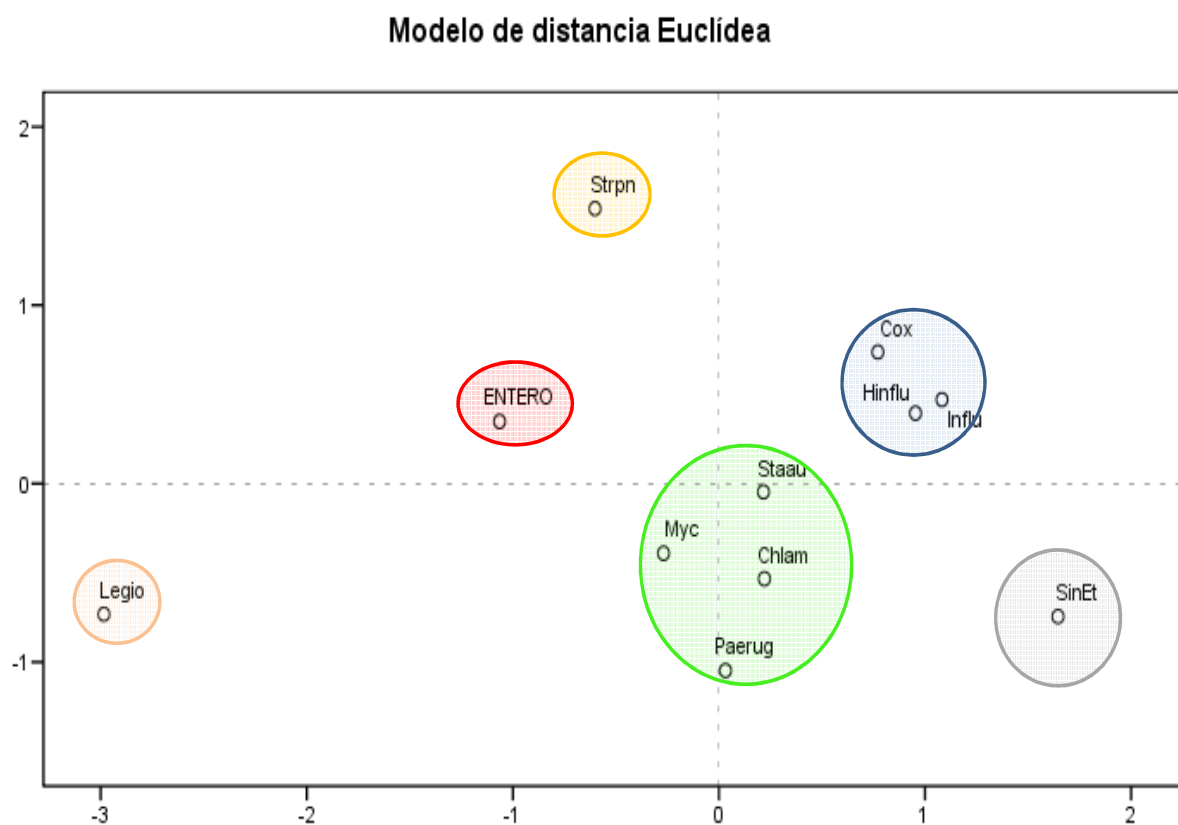
RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

IMAGEN 1: GRÁFICOS DE DISTANCIA DE EUCLIDES



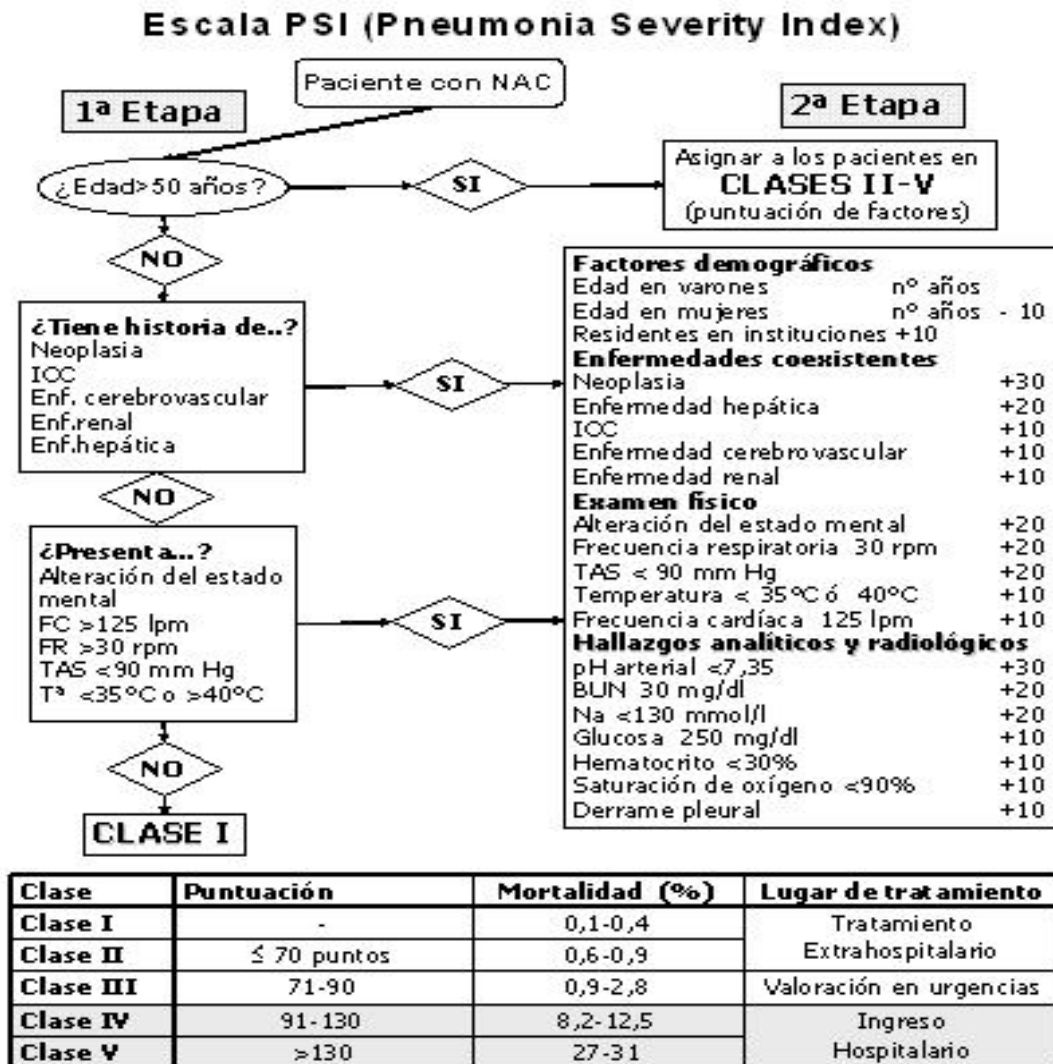
RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

IMAGEN 2: GRÁFICOS DE DISTANCIA DE EUCLIDES



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

ANEXO 1: Escala de Fine / PSI



RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

➤ BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **Menéndez R**, Martínez R, Reyes S, et al. Biomarkers improve mortality prediction by prognostic scales in community -acquired pneumonia. *Thorax* 2009 64: 587-591.
- 2.- **Rodríguez de Castro F**, Rajas O, Aspa J. De la biología a la clínica. *Arch Bronconeumol* 2007; 43:31-39.
- 3.- **Manti AR**. Biomarcadores en Neumonías. *Rev Am Med Resp* 2010; 1: 21-35.
- 4.- **Igonin AA**, Armstrong VW, Shipkova M, Lazareva NB, Kukes VG, Oellerich M. Circulating cytokines as markers of systemic inflammatory response in severe community-acquired pneumonia. *Clinical Biochemistry* 37 (2004) 204-209.
- 5.- **Martínez R**. MD, Menéndez R. MD PhD, Reyes S. MD, Polverino E. MD, Cillóniz C. MD, Martínez A. RN, et al. Factors associated with inflammatory cytokine patterns in community-acquired pneumonia. *ERJ Express* 2010 (pendiente de próxima publicación)
- 6.- **Kruger S**, Ewig S, Papassotiriou J, Kunde J, Marre R, Von Baum H, et al. Inflammatory parameters predict etiologic patterns but do not allow for individual prediction of etiology in patients with CAP-Results from the German competence network CAPNETZ. *Respiratory Research* 2009, 10:65.
- 7.- **Fernández-Serrano S**, Dorca J, Coromines M, Carratalá J, Gudiol F and Manresa F. Molecular Inflammatory Responses Measured in Blood of Patients with Severe Community-Acquired Pneumonia. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Sept.2003, p. 813-820.
- 8.- **Kellum JA**. MD, Kong L. PhD; Fink MP. MD, Weissfeld LA. PhD; Yealy DM. MD, Pinsky MR. MD, et al. Understanding the Inflammatory Cytokine Response in Pneumonia and Sepsis. *Arc Intern Med*. 2007;167(15): 1655-1663.
- 9.- **Hedlund J**, Hansson L-O. Procalcitonin and C-Reactive Protein Levels in Community-Acquired Pneumonia: correlation with Etiology and Prognosis. *Infection* 2000;28:68-73.
- 10.- **Menéndez R**, Cavalcanti M, Reyes S, et al. Markers of treatment failure in hospitalised community acquired pneumonia. *Thorax* 2008 63: 447-452.
- 11.- **Dehoux MS**, Boutten A, Ostinelli J, Seta N, Dombret MC, Crestani B et al. Compartmentalized cytokine production within the human lung in unilateral pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Sep;150(3): 710-6.
- 12.- **Calbo E**, Alsina M, Rodríguez-Carballeira M, Lite J, and Garau J. The impact of time on the systemic inflammatory response in pneumococcal pneumonia. *Eur Respir J* 2010; 35: 614-618.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

- 13.- **Bruns A.H.W**, Oosterheert J.J, Hak E, and Hoepelman A.I.M. Usefulness of consecutive C-reactive protein measurements in follow-up of severe community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2008; 32: 726-732.
- 14.- **Antunes G**, Evans S.A, Lordan J.L, Frew A.J. Systemic cytokine levels in community-acquired pneumonia and their association with disease severity. *Eur Respir J* 2002; 20: 990-995.
- 15.- **Christ-Crain M**. and Opal SM. Clinical review: The role of biomarkers in the diagnosis and management of community-acquired pneumonia. *Critical Care* 2010, 14:203.
- 16.- **Kolsuz M**, Erginel S, Alatas O, Alatas F, Metintas M, Uçgun I, et al. Acute Phase Reactants and Cytokine Levels in Unilateral Community-Acquired Pneumonia. *Respiration* 2003;70:615-622.
- 17.- **Simon L**, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, and Lacroix J. Serum Procalcitonin and C-Reactive Protein Levels as Markers of Bacterial Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases (CID)* 2004;39:206-17.
- 18.- **Nelson S**. Novel Nonantibiotic Therapies for Pneumonia: Cytokines and Host Defense. *Chest* 2001;119;419-425.
- 19.- **Masiá M**, Gutiérrez F, Padilla S, Soldán B, Mirete C, Shum C et al. Clinical characterisation of pneumonia caused by atypical pathogens combining classic and novel predictors. *Clin Microbiol Infect.*2007;13:153-161.
- 20.- **García Vázquez E**, Martínez JA, Mensa J, Sánchez F, Marcos MA, de Roux A et al. C-reactive protein levels in community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2003;2:702-705.
- 21.- **Kushner I**. MD. Acute phase reactants. *Up to Date*. Sep. 2009.
- 22.- **Christ-Crain M**, and Müller B. Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. *Eur Respir J* 2007; 30: 556-573.
- 23.- **Müller B**, Harbarth S, Stolz S, Bingisser R, Mueller C, Leuppi J, et al. Diagnostic and prognostic accuracy of clinical and laboratory parameters in community-acquired pneumonia. *BMC Infectious Diseases* 2007, 7:10.
- 24.- **Niederman MS**. Biological Markers to Determine Eligibility in Trials for Community-Acquired Pneumonia: A Focus on Procalcitonin. *Clinical Infectious diseases* 2008;47:S127-32.
- 25.- **Yende S**, Tuomanen EI, Wunderink R, Kanaya A, Newman A, Harris T, et al. Preinfection Systemic Inflammatory Markers and Risk of Hospitalization Due to Pneumonia. *AM J Respir Crit Care Med* Vol 172. pp 1440-1446, 2005.

RELACIÓN DE CITOKINAS Y BIOMARCADORES COMO PATRONES DE INFLAMACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)

- 26.- **Wattanathum A**, Manocha S, Groshaus H, Russell JA, Walley KR. Interleukin-10 Haplotype Associated With Increased Mortality in Critically Ill Patients With Sepsis From Pneumonia But Not in Patients With Extrapulmonary Sepsis. *Chest* 2005;128;1690-1698
- 27.- **Lee YLL. PhD**, Chen W. MD, Chen LY. MD, Chen CH. MD, Lin YC. MD, Liang SJ. MD, et al. Systemic and bronchoalveolar cytokines as predictors of in-hospital mortality in severe community-acquired pneumonia. *Journal of Critical Care* (2009) xx, xxx-xxx.
- 28.- **Harbarth S**, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, et al. Diagnostic Value of Procalcitonin, Interleukin-6, and Interleukin-8 in Critically Ill patients Admitted with Suspected Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 164. pp 396-402, 2001.
- 29.- **Ramírez P**, Ferrer M, Gimeno R, Tormo S, Valencia M, Piñer R et al. Systemic inflammatory response and increased risk for ventilator-associated pneumonia: A preliminary study. *Critical Care Medicine*: May 2009 – Volume 37- Issue 5 – pp 1691-1695
- 30.- **Deng JC**, Standiford TJ. The systemic response to lung infection. *Clin Chest Med* 2005;26:1-9.
- 31.- **Bals R**, Hiemstra PS. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *Eur Respir J* 2004;23:327-33
- 32.- **Müller F**, Christ-Crain M, Bregenzer T, Krause M, Zimmerli W, Mueller B et al. Procalcitonin Levels Predict Bacteremia in Patients With Community-Acquired Pneumonia: A Prospective Cohort Trial. *Chest* 2010;138;121-129.