



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

## Evaluación de la técnica LightCycler® SeptiFast en recién nacidos y lactantes con sospecha de sepsis

Eva Torres-Martos<sup>a,\*</sup>, Mercedes Pérez-Ruiz<sup>b</sup>, Irene Pedrosa-Corral<sup>b</sup>, Manuela Peña-Caballero<sup>c</sup>, María Manuela Jiménez-Valera<sup>d</sup>, María Dolores Pérez-Ramírez<sup>b</sup> y José María Navarro-Marí<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

<sup>b</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

<sup>c</sup> Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

<sup>d</sup> Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 1 de junio de 2012

Aceptado el 17 de septiembre de 2012

On-line el 6 de noviembre de 2012

#### Palabras clave:

Reacción en cadena de la polimerasa universal

Sepsis neonatal

Septifast

### R E S U M E N

**Introducción:** La sepsis neonatal es una importante causa de morbilidad y mortalidad. Un diagnóstico precoz y el inicio rápido del tratamiento son fundamentales en la evolución del recién nacido. El hemocultivo, considerado técnica de referencia para el diagnóstico de sepsis, presenta una baja sensibilidad en este grupo de pacientes. Se planteó evaluar la utilidad de la PCR múltiple LightCycler® SeptiFast (LC-SF) en el diagnóstico de la sepsis neonatal, comparándola con el hemocultivo tradicional.

**Métodos:** Se recogieron 42 muestras de sangre correspondientes a 35 recién nacidos con episodios febriles ingresados en la unidad de cuidados intensivos neonatal del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Por cada episodio febril se procesaron 2 muestras de sangre venosa periférica para la realización del ensayo LC-SF y del hemocultivo, respectivamente.

**Resultados:** La sensibilidad y la especificidad de LC-SF, comparada con el diagnóstico clínico de sepsis, fueron del 79 y del 87%, respectivamente. La tasa de hemocultivos contaminados fue del 16,7%, detectándose *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) y *Streptococcus* grupo *viridans*. En LC-SF la tasa de SCN contaminantes fue del 2,4%. La concordancia entre las 2 técnicas diagnósticas fue moderada (índice kappa: 0,369). La técnica LC-SF demostró una mayor concordancia con el diagnóstico clínico final (índice kappa: 0,729) que el hemocultivo (índice kappa: 0,238).

**Conclusión:** LC-SF podría ser una herramienta útil, empleada en paralelo con el hemocultivo en recién nacidos, al confirmar o descartar los casos que el hemocultivo no resuelve, además de disminuir el tiempo de obtención de resultado a 7 h.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Evaluation of the LightCycler® SeptiFast test in newborns and infants with clinical suspicion of sepsis

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Universal polymerase chain reaction

Neonatal sepsis

Septifast

**Introduction:** Neonatal sepsis is a significant cause of morbidity and mortality. Early diagnosis and prompt antimicrobial therapy are crucial for a favorable outcome of the newborn child. Blood culture, the current "gold standard" method for diagnosing bloodstream infections, has a low sensitivity in newborns. We evaluated the multiplex real-time PCR LightCycler® SeptiFast (LC-SF) for detection of bloodstream infections in newborns, compared with conventional blood culture.

**Methods:** A total of 42 blood samples were obtained from 35 subjects presenting with a febrile episode and hospitalized in neonatal intensive care unit at Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Two samples were collected during each febrile episode in order to carry out LC-SF assay and blood culture, respectively.

**Results:** Sensitivity and specificity of 79% and 87%, respectively, compared with clinical diagnosis, were obtained for LC-SF. Contamination rate of blood cultures was 16.7%, mainly due to coagulase-negative staphylococci (CoNS) and *viridans* groups of streptococci. Contamination rate of LC-SF by CoNS was 2.4%.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: etorresev@gmail.com (E. Torres-Martos).

Concordance between LC-SF and blood culture was moderate (kappa index: 0.369). LC-SF demonstrated a higher concordance (kappa index: 0.729) with the final clinical diagnosis than blood culture (kappa index: 0.238).

**Conclusion:** LC-SF assay could be a useful diagnostic tool, along with a conventional blood culture, in newborn, for confirming or ruling out those cases that blood culture could not determine, shortening the time to result to 7 hours.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

Las infecciones son la principal causa de morbilidad y mortalidad en el periodo neonatal, y en la mayoría de los casos prolongan la estancia hospitalaria en las unidades de cuidados intensivos neonatal (UCIN). Según los estudios del Grupo Castrillo, la incidencia en España de sepsis de transmisión vertical es de 2,5 por 1.000 recién nacidos (RN) vivos, y la de sepsis nosocomial del 2,1% de los ingresos en unidades neonatales, con una mortalidad del 8,7 y del 11,8%, respectivamente<sup>1,2</sup>.

Un diagnóstico precoz y el inicio rápido del tratamiento son fundamentales en la evolución del RN. La obtención de este diagnóstico precoz sigue siendo un desafío, ya que la mayoría de síntomas y signos de infección neonatal son inespecíficos<sup>3,4</sup>. Los marcadores biológicos como la proteína C reactiva, la procalcitonina o algunas interleucinas se pueden elevar durante las primeras horas de vida en neonatos no infectados<sup>5</sup>. El hemocultivo está considerado como la técnica de referencia para el diagnóstico de sepsis. Sin embargo, la necesidad de instaurar de forma precoz un tratamiento antibiótico, generalmente de amplio espectro, hace que el hemocultivo tenga un elevado porcentaje de falsos negativos, dado que en muchos casos la toma de muestra se realiza tras la instauración de la antibioterapia<sup>6-8</sup>. Otro factor importante es el volumen de sangre extraído en los RN, que suele ser significativamente inferior al obtenido en adultos (<1 ml frente a 10-30 ml). Todo esto, junto con el hecho de que las bacteriemias en RN son a menudo transitorias o intermitentes, limita mucho el valor del hemocultivo en el diagnóstico de sepsis en este grupo de pacientes<sup>9</sup>.

En la última década se han descrito distintas técnicas moleculares para la detección de ADN bacteriano y fúngico directamente de sangre<sup>10-13</sup>. El ensayo LightCycler® SeptiFast Test M<sup>grade</sup> (LC-SF; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) es una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple en tiempo real, para la detección de ADN bacteriano y fúngico (región ITS [*internal transcrip-tor spacer*], situada entre las secuencias ADN<sub>r</sub> 16S-23S y ADN<sub>r</sub> 18S-5,8S, respectivamente). Permite la identificación de 25 microorganismos en sangre humana, representando aproximadamente el 90% de los patógenos implicados en bacteriemia en la población adulta. El objetivo principal de este estudio es evaluar la utilidad de la técnica LC-SF en el diagnóstico de la sepsis neonatal, en comparación con el hemocultivo tradicional.

## Métodos

Se recogieron un total de 42 muestras de sangre de otros tantos episodios febriles de 35 RN y lactantes ingresados en la UCIN del Hospital Universitario Virgen de las Nieves entre abril de 2007 y abril de 2009.

Se procesaron 2 muestras de sangre venosa periférica de cada episodio, con un volumen recomendado de 1 ml para cada técnica, y un volumen final que osciló entre 350 y 1.000 µl según las posibilidades de extracción dadas las características de estos pacientes. Una muestra se inoculó en un tubo de hemograma con K-EDTA, para realización del ensayo LC-SF, y la otra, en frasco pediátrico para hemocultivo por el sistema automático Bactec-9240® (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.). LC-SF se llevó a cabo en

las 24 h siguientes a la recepción de la muestra. La sangre se conservó a 4 °C hasta la realización del ensayo. La extracción del ADN, la realización del ensayo LC-SF y la interpretación de los resultados de la PCR se llevaron a cabo siguiendo las recomendaciones del fabricante.

El tiempo mínimo necesario para la obtención de resultados tras el hemocultivo fue de 48 h. El método de extracción de ácido nucleico en el ensayo LC-SF recomendado por el fabricante fue la extracción manual, llevándose a cabo en aproximadamente 4 h. Esto hace un tiempo total de procesamiento de muestras hasta la obtención de resultados con la técnica LC-SF de 7 h.

El registro de datos y análisis de resultados se llevó a cabo usando PASW Statistics version 18.0 (IBM SPSS Inc., Chicago, EE. UU.). Se realizó análisis retrospectivo de los datos clínicos y de laboratorio junto con los resultados obtenidos por ambas técnicas microbiológicas.

El diagnóstico clínico final fue de sepsis clínica, sepsis probada o sepsis descartada. Se definió como sepsis clínica cuando se cumplieran los criterios clínicos de mala perfusión, mala tolerancia oral, distrés respiratorio e hipotensión y/o los criterios analíticos de leucopenia o leucocitosis con desviación a la izquierda y proteína C reactiva elevada (> 1 mg/dl). La sepsis probada se definió como la presencia de sepsis clínica junto con el aislamiento del microorganismo en el hemocultivo. Se definió como sepsis descartada cuando solo se cumplía uno de los criterios clínicos y/o analíticos de sepsis clínica debido a otras causas, bien porque el hemocultivo se había realizado como control de tratamiento de un episodio previo o porque el paciente estaba afectado por otras patologías no infecciosas.

Se realizó estadística descriptiva de los datos clínicos y de laboratorio. Así mismo se determinaron los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la técnica LC-SF tomando como referencia el diagnóstico clínico final. Se determinó el índice kappa<sup>14</sup> y el acuerdo porcentual para calcular el grado de concordancia entre las técnicas diagnósticas, así como el grado de concordancia entre cada técnica y el diagnóstico clínico final. Para cada parámetro estadístico analizado se calcularon los intervalos de confianza al 95% (IC95%).

## Resultados

La población estaba constituida por pacientes con edades comprendidas entre 0 y 151 días, con una mediana de 8 días (desviación cuartílica: 6 días), de los cuales 13 eran mujeres (37,1%) y 22 varones (62,9%). La mediana del peso al nacer de los RN fue de 2.400 g (rango: 615-3.760 g; desviación cuartílica: 1.090 g), siendo el 54,3% (19/35) RN pretérmino y el 31,4% (11/35) RN de muy bajo peso (RNMBP) (< 1.500 g).

Se consideró sepsis descartada en 23 episodios (54,8%) y sepsis clínica en los otros 19 episodios (45,2%), de los cuales 10 se confirmaron por el hemocultivo (sepsis probada).

Entre los 19 RN pretérmino, en 10 de ellos (52,6%) hubo sepsis clínica, de los cuales 5 (26,3%) fueron sepsis probada. De los 11 RNMBP, 6 (54,5%) fueron sepsis clínica, de los cuales 3 (27,3%) fueron sepsis probada.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3401195>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3401195>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)