



**UniversidaddeValladolid**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Máster en Investigación en Ciencias de la Salud**

**Trabajo Fin de Máster**

"Valor del hemograma en el seguimiento clínico del  
paciente con neumonía asociada a ventilación  
mecánica por *Staphylococcus aureus*"

**Ana Rodríguez Fernández**

**Valladolid, Septiembre 2013**

**Dirigido por:**

**Jesús Fco. Bermejo Martín**

RESUMEN.....	PAG. 3
INTRODUCCIÓN.....	PAG. 4
▪ <i>Staphylococcus aureus</i> : Características microbiológicas, epidemiológicas y patogenia.....	PAG.4
▪ Infección nosocomial en el paciente crítico: Neumonía asociada a ventilación mecánica.....	PAG.8
▪ Biomarcadores clínicos: utilidad en el paciente crítico.....	PAG.9
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	PAG. 11
MATERIAL Y MÉTODOS.....	PAG.12
▪ Diseño del estudio.....	PAG.11
▪ Pacientes.....	PAG.11
▪ Datos clínicos y de laboratorio.....	PAG.12
▪ Diagnóstico clínico.....	PAG.12
▪ Diagnóstico de laboratorio.....	PAG.12
▪ Análisis estadístico.....	PAG.13
▪ Consentimiento informado.....	PAG.14
RESULTADOS.....	PAG.15
DISCUSIÓN.....	PAG.20
CONCLUSIONES.....	PAG.23
BIBLIOGRAFÍA.....	PAG.24

La infección por *Staphylococcus aureus* ha persistido como un importante problema de salud pública, sobre todo desde la aparición de cepas resistentes a la meticilina (SARM) en los años sesenta (1). La neumonía asociada a ventilación mecánica (NAV) es una de las patologías más frecuentes en pacientes críticos ingresados en unidades de cuidados intensivos (UCI), siendo *Staphylococcus aureus* uno de los principales microorganismos causantes de NAV (2). La neumonía asociada a ventilación mecánica está asociada a alta morbilidad y mortalidad, acompañada a su vez de elevados costes económicos. Es por ello, que se están estudiando numerosos biomarcadores inflamatorios que nos permitan mejorar la instauración de correctas terapias antibióticas, que sean eficaces y que nos permitan anticiparnos o predecir la evolución de pacientes con NAV (3–5). Los contajes de las subpoblaciones leucocitarias están demostrando tener un gran valor en la predicción de la evolución de pacientes con infecciones graves (6–8). El hemograma es una de las pruebas de rutina más solicitadas donde viene incluida la fórmula leucocitaria. Estas analíticas se solicitan a diario en pacientes críticos que se encuentran ingresados en unidades de cuidados intensivos, por lo que analizar los valores absolutos de las subpoblaciones leucocitarias no supone ningún gasto añadido al servicio solicitante ni por tanto, a la gerencia hospitalaria. Hemos diseñado un estudio retrospectivo para evaluar la importancia de las subpoblaciones leucocitarias en la mortalidad de pacientes críticos con NAV por *Staphylococcus aureus*.

## INTRODUCCIÓN

---

### *Staphylococcus aureus*: Características microbiológicas, epidemiológicas y patogenia

*Staphylococcus aureus* pertenece al género *Staphylococcus* de la familia *Micrococcaceae*. El nombre *Staphylococcus* fue introducido por Alexander Ogston en 1883 y deriva del griego *staphylé* ("racimo de uvas") que es la forma de agregación del microorganismo, aunque también se pueden encontrar en parejas o tétradas. El género está compuesto por 36 especies de las cuales 16 tienen reservorio humano. Se trata de cocos gran positivos que miden de 0.5-1  $\mu\text{m}$ , inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos. *Staphylococcus aureus* está caracterizado fenotípicamente por poseer coagulasa y catalasa fundamentalmente, lo que le diferencia de la mayoría de especies de su género (9).

Se encuentra distribuido mundialmente y es colonizador habitual de piel y mucosas, sobretodo de la mucosa nasal. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* tienen enorme importancia tanto a nivel comunitario como nosocomial. A nivel hospitalario supone uno de los principales microorganismos productores de neumonía nosocomial, infección postquirúrgica y bacteriemias (10). En cuanto a las infecciones en pacientes críticos (infecciones intrauci), sigue siendo uno de los principales microorganismos aislados, asociados a patologías de enorme interés clínico como son la neumonía asociada a ventilación mecánica, infecciones urinarias relacionadas con sonda uretral y bacteriemias asociadas a catéter entre otras (11).

*Staphylococcus aureus* posee numerosos factores de virulencia lo que le hace una de las especies más patógenas de su género pudiendo causar infecciones graves asociadas a elevada mortalidad. Para desarrollar su acción patógena *Staphylococcus*

*aureus* dispone de componentes de la pared celular, toxinas y enzimas que le van a permitir colonizar, invadir, multiplicarse y diseminarse (ver Tabla 1)

Factor de virulencia		Funciones
Componentes de la pared celular:		
Peptidoglicano		Confiere plasticidad y tolerancia osmótica. Induce la producción de IL-1 por monocitos y estimula la quimiotaxis.
Proteínas de superficie		
a) Proteína fijadora de colágeno ( <i>cna</i> ) y proteína fijadora de fibronectina A y B (FnBPA y FnBPB)		Adherencia.
b) Factor de agrupamiento A (ClfA, <i>Clumping factor A</i> ) o factor de agrupamiento B (ClfB, <i>Clumping factor B</i> )		Agregación bacteriana.
c) Proteína A		Bloquea la fracción Fc de las Ig G. Acción antifagocítica.
Cápsula		Acción antifagocítica.
<i>Biofilm</i>		Confiere resistencia inmunológica. Adherencia.
Ácidos teicoicos y lipoteicoicos		Función metabólica y de adherencia. Estimulan la liberación de citoquinas por macrófagos.
Toxinas:		
Hemolisinas: $\alpha$ , $\beta$ , $\delta$ y $\gamma$		Actividad citotóxica frente a eritrocitos, leucocitos y plaquetas.
Leucocidina de Panton-Valentine		Lisis de leucocitos a través de la formación de poros en las paredes celulares.
Enterotoxinas		Termoestables. Resistentes a enzimas digestivos. Inmunomoduladoras. Superantígeno.
Epidermolisina o exfoliatina (A, termoestable; B, termolábil)		Destrucción de desmosomas en epidermis (sin inflamación ni citolisis).
TSST-I (Toxina 1 del Síndrome del shock tóxico)		Induce la liberación de citoquinas por macrófagos. Superantígeno.
Enzimas:		
Catalasa		Degrada el H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (peróxido de hidrógeno). Protección.
Coagulasa libre o ligada ( <i>Clumping factor</i> )		Convierte fibrinógeno en fibrina (formación de coágulos).
Hialuronidasa		Degrada ácido hialurónico de los tejidos facilitando la invasión tisular.
Otras:		DNasa, lipasa, proteasa, nucleasa, fibroquinasa (también denominada estafiloquinasa).

**Tabla 1: Factores de virulencia más importantes en *Staphylococcus aureus*.**

Puede causar múltiples infecciones mediante la penetración a través de la piel alcanzando tejidos profundos:

- Infecciones respiratorias: sinusitis, infección bronquial, traqueobronquitis y sobretodo neumonías en pacientes sometidos a ventilación mecánica.
- Infecciones de piel y tejidos blandos: foliculitis, impétigo, fascitis, celulitis, mastitis, hidrosadenitis y paroniquia.
- Bacteriemias
- Endocarditis y pericarditis.
- Infecciones musculoesqueléticas: osteomielitis, artritis crónica, piomiositis entre otras.
- Otras: infecciones urinarias, infecciones del sistema nervioso central, cuadros toxigénicos,...

La resistencia antibiótica también ha tenido una enorme repercusión en las infecciones por *Staphylococcus aureus*. La primera resistencia antibiótica descrita para este microorganismo fue la producción de penicilinasas en 1940. Esta resistencia se ha extendido mundialmente y hoy en día el 80-93% de las cepas la poseen. En los años 60 se empiezan a detectar resistencias a oxacilina, lo que supone la aparición de cepas SAMR (*Staphylococcus aureus* meticilin-resistentes) que han ido aumentando progresivamente constituyendo actualmente un problema de gran importancia tanto hospitalaria como comunitaria.

## Infección nosocomial en el paciente crítico: Neumonía asociada a ventilación mecánica

La neumonía se define como una infección del parénquima pulmonar. Se puede clasificar en cuatro clases: infección extrahospitalaria (CAP, community-acquired pneumonia), hospitalaria (HAP, hospital-acquired pneumonia), asociada al uso de ventilador mecánico (VAP, ventilator-associated pneumonia), y recientemente se ha definido una nueva variante, la denominada neumonía asociada a la atención sanitaria (HCAP, health care-associated pneumonia) (12). Se produce como consecuencia de la proliferación de microorganismos a nivel alveolar y de la respuesta inmunitaria desencadenada por el hospedador.

La infección nosocomial (IN) se define como aquella infección localizada o sistémica que resulta de la acción de un agente infeccioso o de sus toxinas, que no estaba presente en el momento del ingreso ni en periodo de incubación (13).

La prevalencia de estas IN se encuentra entre un 4% y un 9% en áreas médicas, quirúrgicas y pediátricas; en cambio, las unidades de cuidados intensivos tienen una prevalencia mucho más elevada alcanzando cifras en torno al 25% (14).

Las IN se producen en diferentes localizaciones y existen factores de riesgo asociados siendo la inmunosupresión, cirugía, uso de sondas urinarias y la ventilación mecánica los principales.

La neumonía es una de las principales patologías que afecta al paciente crítico, sobre todo en aquellos que requieren ventilación mecánica (15). Numerosos estudios han demostrado que las neumonías nosocomiales tienen una importante repercusión a nivel hospitalario tanto en el aumento de la estancia hospitalaria (entre 7 y 10 días, siendo aún mayor en aquellos pacientes que padecen NAV), como en el coste económico asociado (16)(17).

## Biomarcadores clínicos: utilidad en el paciente crítico.

La rápida identificación de pacientes críticos con mayor riesgo de morir es uno de los principales problemas que han afectado al médico intensivista, hoy y siempre.

Existen numerosos *scores* o marcadores que ayudan a tomar decisiones importantes que tienen una enorme repercusión en el pronóstico y tratamiento del paciente crítico.

Un biomarcador ideal en las unidades de cuidados intensivos debería cumplir las siguientes características: ser específico, poseer una elevada sensibilidad, fácil de medir, económico, rápido, que se correlacione con la clínica y evolución del paciente, y pueda predecir mortalidad. Actualmente, se utilizan marcadores cuantificables en sangre periférica (suero o plasma) como son la PCR (Proteína C reactiva) (18) o la PRO (Procalcitonina) (19) que han demostrado ser muy útiles en el seguimiento del paciente crítico.

También existen los denominados *scores* como son el APACHE-II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*) (20), SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) (21,22) que evalúan múltiples parámetros permitiendo una mejor definición del estado de gravedad del paciente.

El estudio de nuevos biomarcadores que permitan conocer y evaluar el estado del paciente crítico, supone un avance y una mejora en la toma de decisiones que afectan al tratamiento, pronóstico y evolución de estos pacientes. El tiempo es un parámetro crítico en estos casos y por tanto, la aparición de nuevos biomarcadores que nos permitan adelantarnos a situaciones muchas veces irreversibles, supone una mejora en la calidad asistencial a nivel hospitalario, reduciendo tasas de mortalidad y los costes económicos que esta problemática genera.

### **HIPÓTESIS**

Las subpoblaciones leucocitarias pueden desempeñar un papel determinante en la mortalidad de pacientes críticos con NAV por *Staphylococcus aureus*.

### **OBJETIVOS**

El presente trabajo se realizó mediante un estudio retrospectivo con los siguientes objetivos:

1. Evaluar la influencia de las subpoblaciones leucocitarias sobre la mortalidad en pacientes con NAV por *Staphylococcus aureus*.
2. Estudiar los factores clínicos asociados a mortalidad.
3. Generar un modelo de predicción de supervivencia basado en los valores absolutos de las subpoblaciones leucocitarias.
4. Establecer nuevos biomarcadores de aplicación clínica sin coste económico añadido.

## MATERIAL Y MÉTODOS

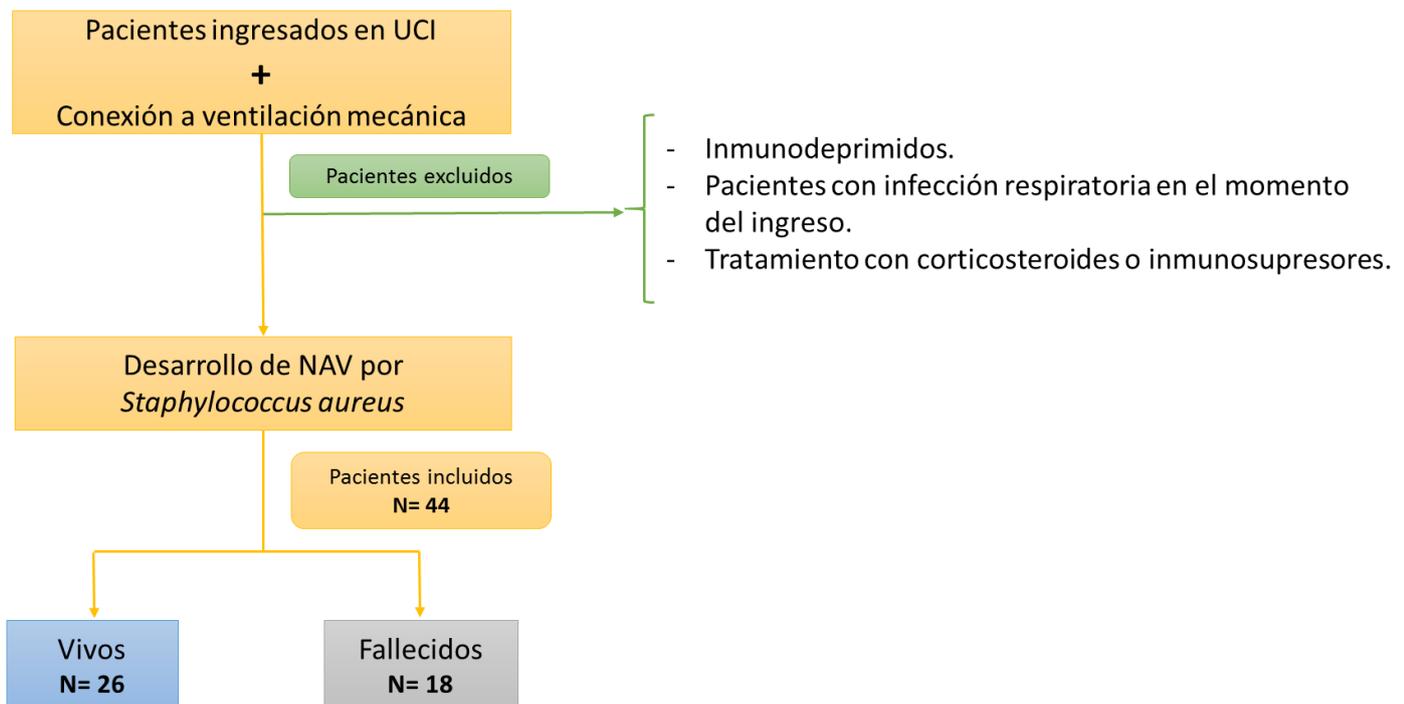
### Diseño del estudio:

Se trata de un estudio retrospectivo donde se recogieron datos demográficos, clínicos y de laboratorio correspondientes al periodo 2006-2011 de pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV).

### Pacientes:

*Criterios de inclusión:* se incluyeron todos aquellos pacientes que ingresaron en la UCI del HCUV, intubados en el momento del ingreso y que posteriormente desarrollaron NAV por *Staphylococcus aureus* (N=44) (Ver Figura 1).

*Criterios de exclusión:* todos aquellos pacientes con síntomas clínicos de infección respiratoria en el momento del ingreso, en tratamiento con inmunosupresores o corticoides, así como pacientes inmunodeprimidos (Ver Figura 1).



**Figura 1:** Criterios de inclusión y exclusión de los pacientes.

#### Datos clínicos y de laboratorio:

Los datos clínicos y analíticos de los pacientes fueron recogidos de las historias clínicas informatizadas y en papel a través del programa interno de historias clínicas y del servicio de registro del HCUV respectivamente.

Los valores de las subpoblaciones leucocitarias se recogieron en dos momentos:

- a) Ingreso del paciente en UCI.
- b) Diagnóstico de NAV.

Los datos microbiológicos fueron obtenidos del Sistema Informático de Laboratorio (SIL) del Servicio de Microbiología e Inmunología del HCUV.

#### Diagnóstico clínico:

La NAV se define como aquella neumonía que se produce al menos 48-72 horas después de la intubación endotraqueal y se caracteriza por la presencia de nuevo o aumento de infiltrado radiográfico asociado a dos o más de los siguientes criterios: a) temperatura superior a 38.5°C o inferior a 36.5°C, b) leucocitos por encima de 12000/ $\mu$ L o por debajo de 4500/ $\mu$ L, c) aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar purulento y d) aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar positivo ( $\geq 10^6$  ufc/mL) (12,23).

#### Diagnóstico de laboratorio:

Se realizaron cultivos cuantitativos de muestras pertenecientes al tracto respiratorio inferior (aspirado endotraqueal, BAS o lavado broncoalveolar, BAL). Para ello cada muestra se cultivó según los protocolos internos del laboratorio, lo que supone la siembra en los siguientes medios: Agar Sangre, agar Chocolate, agar McConkey, agar Chapman y agar Saboraud-Cloramfenicol.

La identificación del microorganismo se realizó mediante técnicas fenotípicas y/o proteómicas incluyendo la espectrometría de masas MALDI-TOF (Bruker®).

Para la realización del antibiograma se utilizaron paneles de microdilución Wider de Francisco Soria-Melguizo SA. Para determinar si se trataba de una cepa de *Staphylococcus aureus* meticiln-resistente (SAMR) o *Staphylococcus aureus* meticiln-sensible (SAMS) se utilizó la CMI de oxacilina presente en el panel y se interpretó mediante reglas del *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) lo que supone que con una CMI (Concentración Mínima Inhibitoria)  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ , la cepa de estudio es resistente a la oxacilina, y por tanto definida como SAMR.

#### Análisis estadístico:

Los datos demográficos y las características clínicas de los pacientes se analizaron comparando los dos grupos (vivos y fallecidos) mediante el test Chi-cuadrado para variables categóricas y el test Mann-Whitney U para variables continuas.

Los valores absolutos de todas las subpoblaciones leucocitarias fueron introducidos en el análisis comparativo entre grupos y solo se obtuvo diferencias estadísticamente significativas en los eosinófilos.

Se obtuvo el Hazard Ratio (HR) y el intervalo de confianza al 95% (IC 95%) mediante regresión de Cox para evaluar la influencia de los incrementos de los eosinófilos y los valores absolutos de eosinófilos en la mortalidad en función del tiempo.

El análisis multivariante se realizó mediante un método de selección de variables por pasos denominado: análisis de Wald.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS-IBM vs 20.0.

Consentimiento informado:

La aprobación tanto científica como ética del estudio se obtuvo del Comité Científico para Investigación Clínica del HCUV.

Se mantuvo la identificación de los pacientes en el anonimato y no se obtuvo el consentimiento informado debido a la naturaleza observacional del estudio.

## RESULTADOS

---

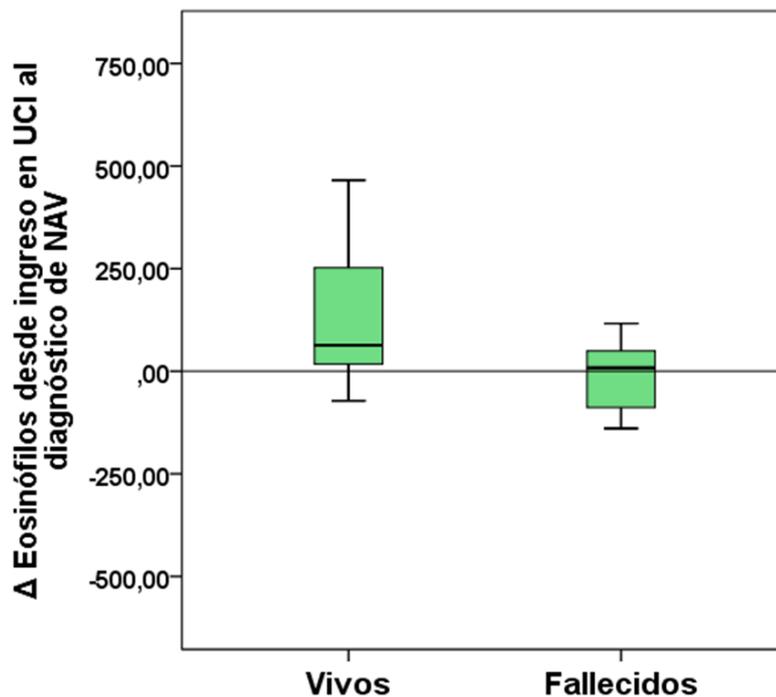
La mayoría de nuestros pacientes eran hombres de edad avanzada. La hipertensión, enfermedad cardiovascular y fumar fueron las comorbilidades más frecuentes. Ambos grupos, vivos y fallecidos, pasaron cuatro días de media en ventilación mecánica y tenían un *score* APACHE-II medio de 18. Eran comparables en edad, sexo y el resto de comorbilidades. Se definió coinfección bacteriana como aquellas otras bacterias aisladas en muestras clínicas de cualquier localización en nuestros pacientes con significación clínica. Los principales focos de coinfección fueron: respiratorio, urinario y sanguíneo. Los principales y más frecuentes microorganismos implicados fueron bacilos Gram negativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (43.3%), *Acinetobacter baumannii* (26.7%) y *Staphylococcus coagulasa negativa* (23.3%).

La comparación de los contajes de las subpoblaciones leucocitarias entre el grupo de vivos y el grupo de fallecidos mostró que solo existían diferencias estadísticamente significativas en los contajes de eosinófilos. Los contajes de eosinófilos en el momento del diagnóstico de NAV en el grupo de los fallecidos eran inferiores que en el grupo de los vivos (ver Tabla 2).

	Vivos (n=26)	Fallecidos (n=18)	p
Edad (Años)	60.0 (35.0)	63.5 (26.0)	n.s
Sexo (Hombre)	23 (88.5)	7 (38.9)	n.s
APACHE-II score	17.0 (11.0)	22.0 (12.0)	n.s
Días en ventilación mecánica hasta el diagnóstico de NAV	4.0 (4.0)	4.5 (4.0)	n.s
SAMR/SAMS	8 (30.8)	4 (22.2)	n.s
Coinfección bacteriana (S/N)	20 (76.9)	10 (55.6)	n.s
Diabetes (Tipo I o II) (S/N)	4 (15.4)	2 (11.1)	n.s
Enfermedad cardiovascular (S/N)	6 (23.1)	5 (27.8)	n.s
Enfermedad renal crónica (S/N)	2 (7.7)	1 (5.6)	n.s
Enfermedad respiratoria crónica (S/N)	6 (23.1)	0 (0.0)	n.s
Enfermedad cerebrovascular (S/N)	6 (23.1)	0 (0.0)	n.s
Fumador (alguna vez) (S/N)	8 (30.8)	1 (5.6)	n.s
Enfermedad neurológica (S/N)	4 (15.4)	0 (0.0)	n.s
Hipertensión (S/N)	12 (46.2)	8 (44.4)	0.084
Cáncer hematológico (alguna vez) (S/N)	1 (3.8)	0 (0.0)	n.s
Cirrosis hepática (S/N)	2 (7.7)	0 (0.0)	n.s
Metástasis (alguna vez) (S/N)	0 (0.0)	2 (11.1)	0.018
Enfermedad gastrointestinal (S/N)	9 (34.6)	1 (5.6)	n.s
Quimioterapia (alguna vez) (S/N)	1 (3.8)	2 (11.1)	n.s
Enolismo (S/N)	4 (15.4)	0 (0.0)	n.s
Usuario de drogas por vía parenteral (S/N)	2 (7.7)	0 (0.0)	n.s
Obesidad (S/N)	3 (11.5)	1 (5.6)	n.s
Dislipemia (S/N)	4 (15.4)	2 (11.1)	n.s
Linfocitos en ingreso en UCI (cels/mm <sup>3</sup> )	960.9 (1017.3)	812.3 (1336.9)	n.s
Monocitos en ingreso en UCI (cels/mm <sup>3</sup> )	480.3 (442.9)	465.8 (436.6)	n.s
Neutrófilos en ingreso en UCI (cels/mm <sup>3</sup> )	7801.9 (7053.9)	9504.0 (9101.8)	n.s
Basófilos en ingreso en UCI (cels/mm <sup>3</sup> )	11.5 (22.0)	10.5 (28.0)	n.s
Eosinófilos en ingreso en UCI (cels/mm <sup>3</sup> )	14.9 (119.0)	20.3 (195.0)	n.s
Linfocitos en diagnóstico de NAV (cels/mm <sup>3</sup> )	983.0 (734.4)	919.6 (973.1)	n.s
Monocitos en diagnóstico de NAV (cels/mm <sup>3</sup> )	501.3 (238.2)	707.1 (473.8)	n.s
Neutrófilos en diagnóstico de NAV (cels/mm <sup>3</sup> )	8261.4 (5372.3)	12182.5 (15051.7)	n.s
Basófilos en diagnóstico de NAV (cels/mm <sup>3</sup> )	13.3 (32.3)	14.2 (16.5)	n.s
<b>Eosinófilos en diagnóstico de NAV (cels/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>112.2 (231.0)</b>	<b>51.5 (118.8)</b>	<b>0.043</b>
Ratio N/L en ingreso UCI	7.2 (9.3)	11.7 (20.1)	n.s
Ratio N/L en diagnóstico de NAV	7.3 (7.6)	10.4 (13.5)	0.059

**Tabla 2: Características clínicas de los pacientes vivos y fallecidos.** El tiempo de supervivencia fue censurado a día 28. Las variables continuas están expresadas en mediana [rango intercuartil]. Las variables categóricas están expresadas como n (%). N.s: no significativo.

A continuación se evaluaron las diferencias en los incrementos de eosinófilos ([contajes en diagnóstico de NAV] – [contajes en el ingreso en UCI]) entre los dos grupos. Los incrementos en el grupo de fallecidos eran significativamente menores que en el grupo de los vivos ( $p= 0.016$ ) (ver Figura 2).



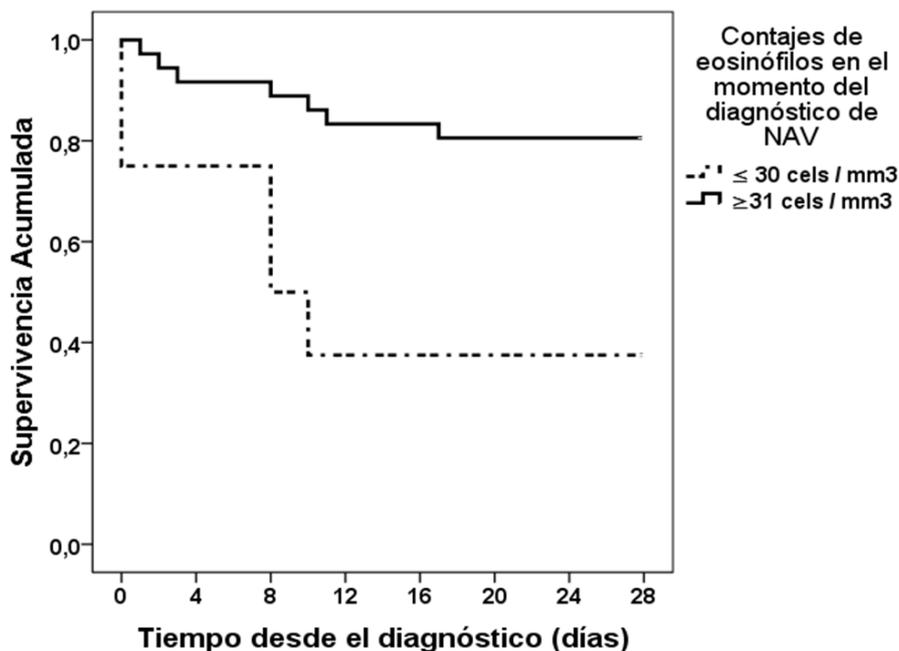
**Figura 2: Diagrama de cajas mostrando los incrementos de eosinófilos:**  
[contajes en diagnóstico de NAV] – [contajes en el ingreso en UCI].

Para el análisis multivariante de Cox, se introdujeron todas aquellas variables consideradas de confusión como la edad, sexo, APACHE-II score, NAV por *Stapylococcus aureus* meticilin-resistente/ *Stapylococcus aureus* meticilin-sensible (SAMR/SAMS), coinfección bacteriana y días en ventilación mecánica. Para los [incrementos de eosinófilos], el test de Wald seleccionó [APACHE-II score] y [incrementos de eosinófilos] como las variables asociadas a mortalidad: (HR [IC 95%, p): [APACHE-II score] (1.073 [1.001 - 1.151], 0.050); [incrementos de eosinófilos]: (0.996 [0.993 - 0.999], 0.010). Para [contajes eosinófilos en el momento del

diagnóstico de NAV (valores *log*), el test de Wald seleccionó [contajes eosinófilos en el diagnóstico de NAV (valores *log*)] como la única variable implicada en el pronóstico: (HR [IC 95%], p): (0.370 [0.180 - 0.750], 0.006).

Por lo tanto, el análisis multivariante mediante regresión de Cox mostró que tanto los [incrementos de eosinófilos] como los [contajes eosinófilos en el momento del diagnóstico de NAV (valores *log*)] eran factores de protección frente al riesgo de morir en los primeros 28 días tras el diagnóstico de NAV.

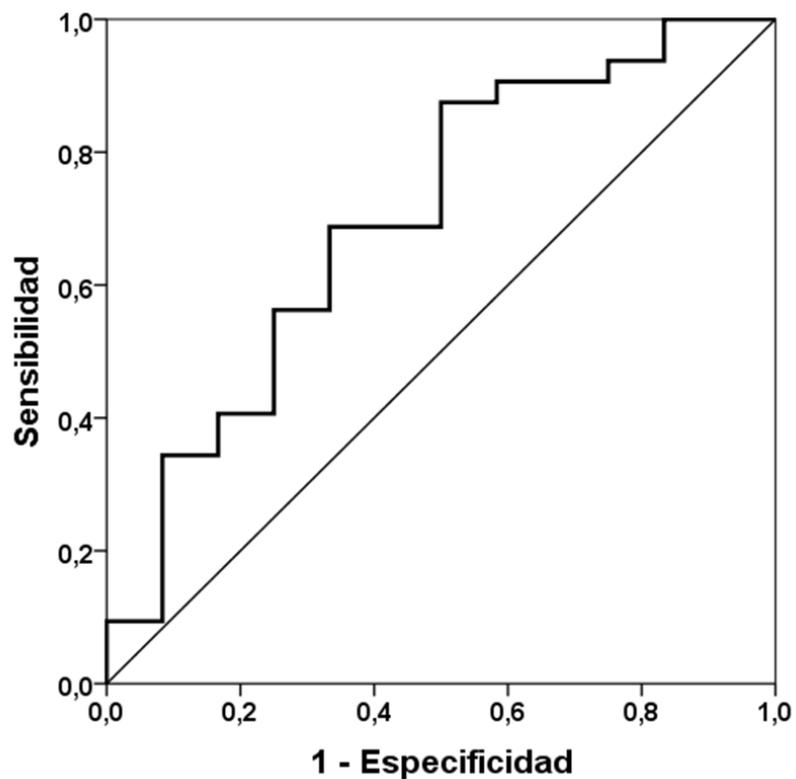
El análisis de Kaplan-Meier mostró que aquellos pacientes con contajes por debajo de 30 eosinófilos/mm<sup>3</sup> fallecían antes (ver Figura 3).



**Figura 3: Curvas Kaplan-Meier para supervivencia:**

Se calcularon los deciles desde el percentil 10 hasta el percentil 90 de los contajes de eosinófilos para comparar supervivencia entre pacientes con alto o bajo número de eosinófilos. El primer decil que mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos mediante el test log-Rank se utilizó como punto de corte (percentil 20). El tiempo fue censurado a día 28 tras el diagnóstico de NAV. Supervivencia Acumulada.

El análisis del área bajo la curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), confirmó que los contajes de eosinófilos en el momento del diagnóstico de NAV pueden ser un buen test para predecir supervivencia en pacientes con NAV por *Staphylococcus aureus* (área [IC 95%], p): (0.701 [0.519 -0.882], 0.042) (ver Figura 4).



**Figura 4: Análisis del área bajo la curva ROC:**

La precisión y los valores predictivos de eosinófilos para detectar supervivientes en los primeros 28 días tras el diagnóstico de NAV se evaluó calculando el área bajo la curva ROC.

Los estudios de regresión y el análisis de curvas ROC respaldan el papel de protección que desempeñan los eosinófilos en la neumonía asociada a ventilación mecánica por *Staphylococcus aureus*. Los eosinófilos son granulocitos que se desarrollan en la médula ósea a partir de progenitores pluripotenciales. La cantidad de eosinófilos circulantes en sangre periférica tanto en estado basal como en estado patológico es muy baja. Los valores normales se sitúan entre un 1% y un 3% del total de leucocitos con valores normales en torno a los 350 cels/mm<sup>3</sup>. Son liberados a sangre periférica y son capaces de ser activados y reclutados por los tejidos en respuesta a diferentes estímulos. La producción de esta subpoblación leucocitaria está cuidadosamente regulada por citoquinas siendo la IL-5 la que desempeña un papel fundamental en el desarrollo, activación, diferenciación y supervivencia de los eosinófilos. Igualmente, otras citoquinas como la IL-3, el GM-CSF (*Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*) (24), y la CCL1 (*Chemoquine ligand 11*) o eotaxina participan y cooperan junto a la IL-5 en los mecanismos de regulación de los eosinófilos (25)(26). Hasta el momento se conocía el papel fisiopatológico que desempeñan los eosinófilos en diferentes entidades clínicas como por ejemplo, el asma. En esta patología, los eosinófilos son reclutados y activados en el tejido pulmonar formando parte de la respuesta inflamatoria. Recientes estudios han confirmado nuevas funciones para este tipo celular como la de poseer cierta actividad antimicrobiana a través de proteínas presentes en los eosinófilos como la ECP (*Eosinophil Cationic Protein*) que parece tener afinidad por el LPS (lipopolisacárido) y PG (peptidoglicano) bacteriano (26). Existen estudios que han demostrado la presencia

de unas estructuras en forma de catapultas en los eosinófilos que se asemejan a las NETs (*Neutrophil Extracellular Traps*) de los neutrófilos. Las NETs son redes formadas por ADN y proteínas de los gránulos presentes en los neutrófilos que actúan simulando una trampa para los microorganismos, uniéndose a ellos y permitiendo exponer dichos antígenos a la respuesta inmunitaria. En el caso de los eosinófilos, la acción es parecida. Se trata de estructuras formadas por ADN mitocondrial y proteínas de los gránulos presentes en los eosinófilos que son liberados al medio extracelular y son capaces de unirse a las bacterias y ejercer una acción bactericida (27).

Nuestros resultados podrían sostener la existencia de actividad antimicrobiana por parte de los eosinófilos en infecciones graves causadas por *Staphylococcus aureus*. La eosinopenia ya se ha relacionado desde hace años con procesos infecciosos (28). En nuestros pacientes, no expandir la población de eosinófilos se traducía en un peor desenlace.

Existe cada vez más evidencia que confirma el papel protector de los eosinófilos en pacientes críticos. Abidi K *et al* han descrito la eosinopenia como un marcador de sepsis en el ingreso en UCI permitiendo distinguir entre aquellos pacientes infectados y no infectados (29). Recientemente, estos autores han descrito la eosinopenia como un marcador de aumento de mortalidad en pacientes críticos (30).

Shaaban *et al* realizan un estudio comparativo entre la eosinopenia, la PCR y la PRO como marcadores de sepsis al ingreso en UVI donde se encontró una sensibilidad comparable entre los mismos y donde se sugiere la utilización del número de eosinófilos como herramienta de ayuda en el diagnóstico de sepsis (31). Merino C *et al* muestran que pacientes sépticos que fallecían tenían menor número de eosinófilos que aquellos que sobrevivían (32).

Prince LR ha demostrado que la  $\alpha$ -hemolisina de *S.aureus* induce la muerte celular de los eosinófilos (33), lo que podría representar un mecanismo de evasión de la respuesta inmune.

Terradas R *et al* han observado que una eosinopenia mantenida junto a un elevado ratio neutrófilo/linfocito eran marcadores independientes de mortalidad en pacientes con bacteriemia [8]. Basándonos en estos resultados, en nuestro trabajo evaluamos el ratio neutrófilo/linfocito (ratio N/L) en vivos y fallecidos. No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el ratio de ambos grupos pero parece haber una tendencia a que aquellos pacientes que fallecían poseían un ratio N/L mayor (ver Tabla 2).

Una de las limitaciones de nuestro estudio fue que solo se recogieron dos muestras de sangre periférica (en el momento de ingreso en UCI y en el momento del diagnóstico de NAV). En futuros estudios, sería interesante evaluar los contajes de eosinófilos en otros momentos a lo largo del curso de la enfermedad.

## CONCLUSIONES

---

Las conclusiones de nuestro trabajo fueron las siguientes:

1. El número absoluto de eosinófilos en sangre periférica y el incremento de eosinófilos están relacionados inversamente con la probabilidad de morir en la neumonía asociada a ventilación mecánica por *Staphylococcus aureus*.
2. Los pacientes con números absolutos de eosinófilos por debajo de 30 cels/mm<sup>3</sup>, fallecen antes en la neumonía asociada a ventilación mecánica por *Staphylococcus aureus*.
3. Este trabajo revela por primera vez un papel protector de los eosinófilos en la neumonía asociada a ventilación mecánica por *Staphylococcus aureus*.
4. Nuestros resultados apoyan el uso clínico de los eosinófilos como biomarcador en el pronóstico de la neumonía asociada a ventilación mecánica por *Staphylococcus aureus*.

## **BIBLIOGRAFÍA**

---

1. Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R, et al. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2006 Feb 1;42(3):389–91.
2. Chan JD, Dellit TH, Choudhuri JA, McNamara E, Melius EJ, Evans HL, et al. Active surveillance cultures of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a tool to predict methicillin-resistant *S. aureus* ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med.* 2012 May;40(5):1437–42.
3. Rewa O, Muscedere J. Ventilator-associated pneumonia: update on etiology, prevention, and management. *Curr Infect Dis Rep.* 2011 Jun;13(3):287–95.
4. Bloos F, Marshall JC, Dellinger RP, Vincent J-L, Gutierrez G, Rivers E, et al. Multinational, observational study of procalcitonin in ICU patients with pneumonia requiring mechanical ventilation: a multicenter observational study. *Crit Care Lond Engl.* 2011;15(2):R88.
5. Hillas G, Vassilakopoulos T, Plantza P, Rasidakis A, Bakakos P. C-reactive protein and procalcitonin as predictors of survival and septic shock in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J.* 2010 Apr;35(4):805–11.
6. Merino CA, Martínez FT, Cardemil F, Rodríguez JR. Absolute eosinophils count as a marker of mortality in patients with severe sepsis and septic shock in an intensive care unit. *J Crit Care.* 2012 Aug;27(4):394–9.

7. Rosenberger LH, Hranjec T, McLeod MD, Politano AD, Guidry CA, Davies S, et al. Improvements in pulmonary and general critical care reduces mortality following ventilator-associated pneumonia. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013 Feb;74(2):568–74.
8. Terradas R, Grau S, Blanch J, Riu M, Saballs P, Castells X, et al. Eosinophil count and neutrophil-lymphocyte count ratio as prognostic markers in patients with bacteremia: a retrospective cohort study. *PLoS One.* 2012;7(8):e42860.
9. PHILIPPE MOREILLON Y-AQ. *Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock).* *Enfermedades Infecc. septima.* Elsevier; p. 2543–78.
10. Kanafani ZA, Fowler VG Jr. [Staphylococcus aureus infections: new challenges from an old pathogen]. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* 2006 Mar;24(3):182–93.
11. SEMICYUC. *Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en servicios de medicina intensiva.* 2012.
12. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008 Jun;36(5):309–32.
13. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control.* 1988 Jun;16(3):128–40.
14. Vaqué J, Rosselló J, Arribas JL. Prevalence of nosocomial infections in Spain: EPINE study 1990-1997. EPINE Working Group. *J Hosp Infect.* 1999 Dec;43 Suppl:S105–111.

15. Leroy O, Soubrier S. Hospital-acquired pneumonia: risk factors, clinical features, management, and antibiotic resistance. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 May;10(3):171–5.
16. Flanders SA, Collard HR, Saint S. Nosocomial pneumonia: state of the science. *Am J Infect Control*. 2006 Mar;34(2):84–93.
17. Rosenthal VD, Bijie H, Maki DG, Mehta Y, Apisarnthanarak A, Medeiros EA, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *Am J Infect Control*. 2012 Jun;40(5):396–407.
18. Lobo SMA, Lobo FRM, Bota DP, Lopes-Ferreira F, Soliman HM, Mélot C, et al. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest*. 2003 Jun;123(6):2043–9.
19. Jensen JU, Heslet L, Jensen TH, Espersen K, Steffensen P, Tvede M. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med*. 2006 Oct;34(10):2596–602.
20. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985 Oct;13(10):818–29.
21. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on “sepsis-

- related problems” of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med*. 1998 Nov;26(11):1793–800.
22. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA J Am Med Assoc*. 2001 Oct 10;286(14):1754–8.
23. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Feb 15;171(4):388–416.
24. Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, et al. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2008 May;38(5):709–50.
25. Rothenberg ME. Eosinophilia. *N Engl J Med*. 1998 May 28;338(22):1592–600.
26. Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2013 Jan;13(1):9–22.
27. Yousefi S, Gold JA, Andina N, Lee JJ, Kelly AM, Kozlowski E, et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nat Med*. 2008 Sep;14(9):949–53.
28. Gil H, Magy N, Mauny F, Dupond J-L. [Value of eosinopenia in inflammatory disorders: an “old” marker revisited]. *Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Française Médecine Interne*. 2003 Jul;24(7):431–5.

29. Abidi K, Khoudri I, Belayachi J, Madani N, Zekraoui A, Zeggwagh AA, et al. Eosinopenia is a reliable marker of sepsis on admission to medical intensive care units. *Crit Care Lond Engl*. 2008;12(2):R59.
30. Abidi K, Belayachi J, Derras Y, Khayari ME, Dendane T, Madani N, et al. Eosinopenia, an early marker of increased mortality in critically ill medical patients. *Intensive Care Med*. 2011 Jul;37(7):1136–42.
31. Shaaban H, Daniel S, Sison R, Slim J, Perez G. Eosinopenia: Is it a good marker of sepsis in comparison to procalcitonin and C-reactive protein levels for patients admitted to a critical care unit in an urban hospital? *J Crit Care*. 2010 Dec;25(4):570–5.
32. Merino CA, Martínez FT, Cardemil F, Rodríguez JR. Absolute eosinophils count as a marker of mortality in patients with severe sepsis and septic shock in an intensive care unit. *J Crit Care*. 2012 Aug;27(4):394–9.
33. Prince LR, Graham KJ, Connolly J, Anwar S, Ridley R, Sabroe I, et al. *Staphylococcus aureus* induces eosinophil cell death mediated by  $\alpha$ -hemolysin. *PLoS One*. 2012;7(2):e31506.