

ARTÍCULO ORIGINAL

Eficacia de la cuantificación de interleucina-6 en el líquido cefalorraquídeo para el diagnóstico de meningitis bacteriana neonatal

Dr. Federico Javier Ortiz-Ibarra, Dr. Jesús Reyna-Figueroa,
Dr. Rodrigo Efrén Aldana-Cuevas, QBP. Jacqueline Lara-Sánchez

Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, México, D.F., México.

Resumen

Introducción. Una gran variedad de citocinas se producen en el sistema nervioso central como respuesta a infección microbiana, elevándose de manera consistente para ser consideradas indicadores de infección, por lo que bien podría servir para el diagnóstico de meningitis neonatal. **Objetivo:** conocer las concentraciones de interleucina-6 (IL-6) en líquido cefalorraquídeo (LCR) del recién nacido (RN) con meningitis bacteriana y determinar la eficacia de la prueba en el diagnóstico de meningitis.

Material y métodos. Este estudio se realizó de manera prospectiva de diciembre de 2002 a julio de 2003, en el que se midieron las concentraciones de IL-6 en el LCR de 58 RN con sospecha de sepsis a los que se les realizó punción lumbar para la obtención y análisis del LCR.

Resultados. Catorce de los 58 RN cursaron con meningitis bacteriana. La media de la concentración de IL-6 en el grupo de no expuestos fue de 15.4 pg/mL, mientras que en el grupo expuesto fue de 9 994 pg/mL ($P < 0.05$). Los resultados de sensibilidad (92%), especificidad (100%), valor predictivo positivo y área bajo la curva ROC, muestran una concentración de IL-6 igual o mayor de 50 pg/mL en el LCR como positivo para diagnóstico de meningitis neonatal.

Conclusiones. La determinación de la concentración de IL-6 en LCR puede ser herramienta útil en el diagnóstico de meningitis, aunque el análisis citoquímico y el cultivo del LCR continúan siendo el estándar de oro.

Palabras clave. Interleucina- 6; meningitis neonatal; líquido cefalorraquídeo.

Solicitud de sobretiros: Dr. Federico Javier Ortiz Ibarra, Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal, Instituto Nacional de Perinatología, Montes Urales 800, Col. Lomas Virreyes, Deleg. Miguel Hidalgo, C.P. 11000, México, D.F., México.

Fecha de recepción: 31-03-2005.

Fecha de aprobación: 14-07-2005.

Introducción

La meningitis bacteriana neonatal (MBN) es una enfermedad infecciosa grave del sistema nervioso central (SNC), durante el primer mes de vida. El análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) así como el cultivo, continúan siendo el estándar de oro en el diagnóstico de dicha enfermedad. Aún así, la interpretación del análisis del LCR en ocasiones se torna difícil debido a que las cifras de algunos de sus valores pueden superponerse con los del recién nacido sanos.¹⁻⁵

Durante las dos últimas décadas, los avances en la inmunología han permitido conocer las características del hospedero ante la infección, explicando la acción de citocinas como mediadores y reguladores de la respuesta inmune, eliminando el agente etiológico y facilitando la reparación del daño tisular. Una gran variedad de citocinas son producidas en forma local como respuesta a la invasión microbiana.⁶⁻¹⁰

Las actividades biológicas de la interleucina-6 (IL-6) son muy diversas, incluyéndose la inducción de la síntesis de proteínas de fase aguda, producción de inmunoglobulinas, proliferación y diferenciación de células T, mejoría de la actividad de las células asesinas naturales y la maduración de los megacariocitos. Es considerada un regulador mayor de la respuesta proteínica en la fase aguda de la inflamación, y sus concentraciones se han demostrado elevadas en procesos tales como sepsis, linfomas y enfermedades autoinmunes. Y se elevan en cantidades similares a la del adulto en diversos líquidos biológicos, en los que se incluye el LCR.¹¹⁻¹⁵

Con el fin de establecer mayor información sobre las probables concentraciones de IL-6 en LCR que permitan predecir diagnóstico de neuroinfección en la edad neonatal y que pudieran servir de apoyo en MBN, se llevó a cabo el presente estudio.

Material y métodos

Se estudiaron a recién nacidos con sospecha de sepsis y/o meningitis hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y la Unidad de

Cuidados Intermedios Neonatales del Instituto Nacional de Perinatología (INPer), y a los que se les solicitó como parte del protocolo del paciente con sospecha de infección sistémica, citoquímico, citológico y cultivo del LCR, de diciembre de 2002 a julio de 2003. Se incluyeron a recién nacidos con al menos dos datos clínicos y dos valores de laboratorio en la biometría hemática alterados, compatibles con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica de acuerdo a los criterios de Bone y col.,¹⁶ modificados para neonatos, que definen síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), con solicitud de cultivo de LCR.

Los pacientes se dividieron en dos grupos: a) Expuestos: neonatos con datos de SRIS más el cultivo del LCR positivo a crecimiento bacteriano y que presentaran en el LCR al menos dos de las siguientes alteraciones: leucocitos por arriba de 9 células/mL, proteínas superiores a 115 mg/dL y glucosa menor a 50 mg/dL en pacientes pretérmino,¹⁷ o leucocitos por arriba de 15 células/mL, proteínas superiores a 80 mg/dL y glucosa menor a 45 mg/dL en pacientes de término,¹ definidos como pacientes con meningitis; b) No expuestos: cuando tenían datos de SRIS y el cultivo del LCR fue negativo a crecimiento bacteriano y no presentó alteraciones.

Se excluyeron a: pacientes con derivaciones ventriculares, las muestras consideradas traumáticas, los pacientes que tuvieran uso de antimicrobianos al menos 72 horas previas al cultivo y a los pacientes que a pesar de las alteraciones en el LCR no tuvieran el cultivo positivo a bacteria (por no poder definir la etiología bacteriana) y los que tuvieran cultivo positivo, pero sin datos clínicos de SRIS o sin alteraciones en el LCR (se consideraron contaminados).

A cada muestra de LCR de ambos grupos se le cuantificó las concentraciones de IL-6 mediante ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida, por quimioluminiscencia realizado en forma automatizada, en el analizador IMMULITE (DPC Cirus Inc. los Ángeles California USA), técnica estandarizada previamente en el laboratorio de inmunología del departamento de Infectología, para su uso en LCR. Encontrándose el límite bajo de

detección en 2 pg/mL, requiriendo un volumen mínimo de muestra de 350 µL.

Análisis estadístico. Se llevó a cabo por medio de estadística descriptiva, valores predictivos, sensibilidad, especificidad y curvas ROC.

Resultados

Se estudiaron un total de 58 pacientes, los cuales cumplieron con criterios de inclusión, 14 (24%) que se incluyeron como casos y 44 (76%) en el grupo de controles. La media en la edad gestacional del grupo expuesto fue de 35 ± 3 semanas de gestación (SDG), mientras que los no expuestos fue de 34 ± 2 SDG, el peso en los expuestos tuvo una media de $1\ 867 \pm 150$ g, mientras que en los no expuestos fue de $1\ 840 \pm 175$ g, en el cuadro 1 se reportan el resto de las características de los pacientes.

Los datos clínicos con diferencia estadística en ambos grupos fueron: irritabilidad, hipotermia, hepatoesplenomegalia, fontanela abombada, dificultad respiratoria y fiebre (Cuadro 2).

Los microorganismos aislados en LCR de los 14 pacientes fueron: *Staphylococcus aureus* cuatro (28.5%), *Staphylococcus epidermidis* cuatro (28.5%), *Enterococcus faecalis* dos (14.2%), *Micrococcus* sp. dos (14.2%), *Staphylococcus hominis* uno (7.1%), *Staphylococcus warneri* uno (7.1%).

Los valores promedio de proteínas en LCR fue de 144 ± 25 mg/dL en el grupo de expuestos vs 103 ± 2.5 mg/dL en el de no expuestos, mientras que para glucorraquia se reportaron 42.8 ± 5.1 mg/dL vs 41.2 mg/dL y para los leucocitos en LCR la media fue de 55.6 ± 18 células/mm³ vs 1.5 ± 0.4 células/mm³ respectivamente.

Concentraciones de IL-6 en LCR

La media de la concentración de IL-6 en el grupo de no expuestos fue de 15.4 pg/mL, con intervalo de 2 a 46.5 pg/mL, en 15 (34%) pacientes de este grupo no se detectaron niveles de IL-6; mientras que en el grupo expuesto la media fue de 9 994 pg/mL, con un intervalo amplio de 43.7 a 34 000 pg/mL ($P < 0.05$).

Cuadro 1. Características de los pacientes de acuerdo a cada grupo

Característica	Expuestos Núm. (%)	No expuestos Núm. (%)
Sexo		
Masculino	6 (43)	23 (53)
Femenino	8 (57)	21 (47)
Hemorragia intraventricular	1 (7.1)	3 (6.8)
Asfixia perinatal	0 (0)	1 (2.2)
Uso de catéteres	11 (78)	30 (68)
Uso de nutrición parenteral	6 (43)	16 (36)
Membrana hialina	3 (21.4)	11 (25)
Asfixia perinatal	1 (7.1)	3 (6.8)
DHE	0 (0)	1 (2.2)
Ventilación mecánica	7 (50)	11 (25)

Desequilibrio hidroelectrolítico

Cuadro 2. Datos clínicos encontrados en ambos grupos

Dato	Expuestos Núm. (%)	No expuestos Núm. (%)	RR (IC 95%)	P
Irritabilidad	7 (50)	7 (16)	3 (1-5)	<0.05
Hipotermia	5 (36)	4 (9)	3 (1.3-6.9)	<0.05
Hepatoesplenomegalia	5 (36)	5 (11)	2.67 (1.13-6.2)	<0.05
Fontanela abombada	2 (14)	0 (0)	4.6 (2.8-7.7)	<0.05
Hipoactividad	8 (57)	24 (55)	1.0 (0.4-2.7)	NS
Dificultad respiratoria	7 (50)	17 (39)	2 (0.7- 4.7)	<0.05
Fiebre	6 (43)	15 (34)	1.6 (0.6-4.2)	NS
Distensión abdominal	4 (29)	10 (23)	1.2 (0.4-3.3)	NS
Rechazo al alimento	2 (14)	11 (25)	0.5 (0.15- 2.26)	NS
Acidosis metabólica	2 (14)	10 (23)	0.6 (0.16-2.4)	NS
Hiporreactividad	5 (36)	15 (34)	1.33 (0.51-3.4)	NS
Piel marmórea	4 (29)	16 (36)	1 (0.3- 2.7)	NS
Ictericia	8 (57)	29 (66)	0.7 (0.3-1.8)	NS
Crisis convulsivas	2 (14)	6 (14)	0.52 (0.13-2.0)	NS
Apneas	5 (36)	18 (41)	1.0 (0.4-2.8)	NS
Hipoglucemia	3 (22)	11 (25)	0.8 (0.2-2.6)	NS

NS: no significativo

Se determinó de acuerdo a los resultados de sensibilidad, especificidad y valores predictivos y curva ROC, que el punto de corte es igual o mayor de 50 pg/mL en el LCR era positivo a neuroinfección (Cuadro 3).

Discusión

La respuesta inflamatoria del paciente infectado evidenciada en la elevación significativa de IL-6, ya se ha descrito en otras series. Los hallazgos de este estudio son consistentes con los estudios previos, que muestran elevación en los niveles de citocinas en niños mayores de la etapa neonatal con meningitis. Rusconi y col.⁹ reportaron una serie de 42 pacientes de edades entre un mes y 15 años, donde se

encuentran concentraciones de IL-6 dentro de un límite de 151 a 156 000 U/mL, documentando la producción local de IL-6 en el SNC.

En recién nacidos, la relación entre la producción de IL-6 y la infección del SNC ha sido poco estudiada, debido a la tendencia de los valores a la dispersión, como se documenta en nuestro estudio, donde incluso, con el mismo agente microbiano aislado, con similitud en edades gestacionales, la diferencia entre una cifra y otra es evidente. Se encontró elevación de IL-6 igual o mayor de 50 pg/mL en el LCR cuando existió aislamiento de una bacteria, con una sensibilidad de 92%, especificidad de 100%, VPP de 100% y VPN de 97%. Estudios similares como los de Dulkerian y col.⁷ reportan a neonatos de 37 SDG, con sospecha de meningitis, reportan-

Cuadro 3. Puntos de corte encontrados con los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos

IL-6 (pg/mL)	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
5	100	52	40	100
40	100	95	87	100
50	93	100	100	97
90	64	100	100	89
200	57	100	100	88
1 900	50	100	100	86
9 900	42	100	100	83
18 300	36	100	100	83
20 700	28	100	100	81
25 900	21	100	100	80
34 000	7	100	100	77

do cifras 10 veces mayores a las observadas en neonatos sin meningitis con sensibilidad de 100% y especificidad de 79%, VPP de 69% y VPN de 100%; Chavanet y col.¹⁰ en adultos encontraron una sensibilidad de 100%. Lo que establece la utilidad como prueba de apoyo en el diagnóstico de MBN.

Los niveles de IL-6 en el LCR de los pacientes de este estudio sin meningitis, se reportaron en la mayoría de ellos menores a 2 pg/mL, mientras que en los pacientes con meningitis la cifra mínima fue de 40 pg/mL, lo cual da una diferencia significativa entre los valores de un grupo y de otro. Debido al tamaño de la muestra (pequeño) y a que no fue el objetivo del estudio, no se correlacionaron las cifras de interleucina con el tipo de microorganismo aislado, o si el problema es viral o bacteriano, lo cual da pie a nuevos estudios que contemplen dicho objetivo.

Otra situación interesante fue que en LCR contaminados con sangre por haberse realizado punciones traumáticas, las cifras de IL-6 no se modificaron en forma importante al repetir la punción de estos

pacientes y obtener en forma adecuada la muestra, por lo que se consideró que la determinación de IL-6 puede ser utilizada con seguridad para el diagnóstico de meningitis en neonatos.¹¹

Los resultados nos hacen pensar que los valores de IL-6 en el LCR varían considerablemente entre neonatos sépticos sin meningitis, y neonatos sépticos con repercusión o infección en SNC, siendo esta determinación uniformemente sensible como factor a considerar para el diagnóstico de meningitis bacteriana; aún en presencia de otros factores como hemorragia intraventricular y asfixia, que también elevan las cifras de IL-6 en LCR pero en menor cantidad.

Además se determinó al punto de corte en 50, como el de mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico, siendo según nuestros resultados una herramienta útil, aunque como se refiere en todo el mundo, el análisis del LCR así como el cultivo, continúan siendo técnicas sencillas, reproducibles, baratas y el estándar de oro en el diagnóstico de meningitis neonatal.

EFFECTIVENESS OF THE MEASUREMENT OF INTERLEUKIN-6 IN CEREBROSPINAL FLUID
FOR DETECTION OF NEONATAL BACTERIAL MENINGITIS

Introduction. A great variety of cytokines are produced locally in the central nervous system in response to microbial infection, and their levels have been used as a diagnostic parameter of infection. Objectives: to determine the concentrations of interleukin-6 (IL-6) in cerebrospinal fluid (CSF) of newborns with bacterial meningitis and the effectiveness of the determination as a diagnostic tool.

Material and methods. This was a prospective study from December 2002 to July 2003, in the Instituto Nacional de Perinatología (INPer), in which the concentrations of IL-6 in the CSF were measured in newborns with a clinical diagnosis of sepsis.

Results. Fourteen out of 58 newborns attended during the study period had bacterial meningitis. The mean IL-6 concentration in the meningitis group was 9 994 pg/mL vs 15.4 pg/mL in the control group ($P < 0.05$). Sensitivity was (92%), the specificity (100%); the positive predictive value and area under the ROC curve support that IL-6 concentration of >50 pg/mL in CSF are the cut-off level of neonatal bacterial meningitis.

The concentrations of IL-6 in the CSF were greater, demonstrating itself that concentrations of IL-6 equal or greater to 50 pg/mL have a sensitivity of 92% and a specificity of 100%, for the diagnosis of bacterial meningitis.

Conclusions. The determination of the concentration of IL-6 in CSF could be a useful tool in the meningitis diagnosis; however CSF conventional analysis and culture are still the gold standard.

Key words. Interleukina- 6; bacterial meningitis; cerebrospinal fluid.

Referencias

1. Polin RA, Harris MC. Neonatal bacterial meningitis. *Semin Neonatol* 2001; 6: 157-72.
2. Reyna FJ, Ortiz IFJ, Plazola CNG, Limón RAE. Meningitis bacteriana en recién nacidos. Experiencia en el Instituto Nacional de Perinatología de 1990 a 1999. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2004; 5: 402-11.
3. Harvey D, Holt ED, Bedford H. Bacterial meningitis in the newborn, a prospective study of mortality and morbidity. *Semin Perinatol*. 1999; 3: 218-22.
4. Feigin RD, Pearlman E. Bacterial meningitis beyond the neonatal period. En: Feigin RD, editor. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co.; 1998. p. 400-30.
5. Dawson GK, Emerson CJ, Burns LJ. Fifteen years of experience with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1999; 18: 816-22.
6. Van de Poll T, Van Deventer SJH. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infect Dis Clin North Am*. 1999; 13: 413-26.
7. Dulkerian S, Kilpatrick L, Costarino A, Mc Cawley L, Fein J, Corcoran L, et al. Cytokine elevations in infants with bacterial and aseptic meningitis. *J Pediatr* 1995; 126: 872-6.
8. Mancilla J. Utilidad de las citocinas en el diagnóstico de sepsis neonatal. *Medicina basada en evidencias*. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2000; 57: 581-6.
9. Rusconi F, Parizzi F, Garlaschi L, Assael B, Sironi M, Ghezzi P. Interleukin 6 activity in infants and children with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1993; 167: 471-4.
10. Chavenet P, Bonnotte B, Guiguet M, Zeller V, Solary E, Maurice L, et al. High concentrations of intrathecal interleukin-6 in

human bacterial and nonbacterial meningitis. *J Infect Dis.* 1992; 166: 428-31.

11. Ichiyama T, Hayashi T, Nishikawa M, Furukawa S. Levels of transforming growth factor beta-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 in cerebrospinal fluid: Association with clinical outcome for children with bacterial meningitis. *Clin Infect Dis.* 1997; 25: 328-9.

12. Dollner H, Vatten L, Austgulen R. Early diagnostic markers for neonatal sepsis: comparing C- reactive protein, interleukin 6 and soluble adhesion molecules. *J Clin Epidemiol.* 2001; 54: 1251-4.

13. Azuma H, Tsuda N, Sasaki K, Okuno A. Clinical significance of cytokine measurement for detection of meningitis. *J Pediatr.* 1997; 131: 463-5.

14. Matsuzono Y, Narita M, Akutsu N, Togashi T. Interleukin 6 in cerebrospinal fluid of patients with central nervous system infections. *Acta Paediatr.* 1995; 84: 879-83.

15. Bone RC, Sprung CL, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure. *Crit Care Med.* 1992; 20: 724-6.

16. Bonadio WA, Smith DS, Goddard S. Distinguishing CSF abnormalities in children with bacterial meningitis and traumatic lumbar puncture. *J Infect Dis.* 1990; 162: 251-7.