



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
MAESTRÍA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

“TRABAJO DE TITULACIÓN EXAMEN COMPLEXIVO”
PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE MAGISTER EN BIOQUÍMICA
CLÍNICA

“ANÁLISIS DE LA INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO
ASOCIADOS A SEPSIS NEONATAL TEMPRANA”

AUTOR: VERÓNICA MONSERRATH BUENAÑO ZAMBRANO
TUTOR: BIÓL. GUSTAVO SAÚL ESCOBAR VALDIVIESO, MSC.

GUAYAQUIL – ECUADOR
SEPTIEMBRE 2016

 Presidencia de la República del Ecuador		 Plan Nacional de Ciencia, Tecnología, Innovación y Saberes		 SENESCYT Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación	
REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA					
FICHA DE REGISTRO ESTUDIO DE CASO EXAMEN COMPLEXIVO					
TÍTULO: ANÁLISIS DE LA INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A SEPSIS NEONATAL TEMPRANA					
AUTOR/ES: BQ.F. VERÓNICA MONSERRATH BUENAÑO ZAMBRANO			REVISORES: BIÓL. GUSTAVO SAÚL ESCOBAR VALDIVIESO, MSC		
INSTITUCIÓN: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL			FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS		
PROGRAMA: MAESTRÍA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA					
FECHA DE PUBLICACIÓN:			NO. DE PÁGS:		
ÁREA TEMÁTICA: EPIDEMIOLOGÍA					
PALABRAS CLAVES: Sepsis neonatal, corioamnionitis, microorganismos, líquido cefalorraquídeo, ruptura prematura de membranas.					
RESUMEN: Se realizó el estudio de sepsis neonatal temprana en pacientes recién nacidos, con el fin de describir la epidemiología de la SNT en un hospital público, este estudio permitió analizar muestras de sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR) obtenidos durante las primeras 72 horas de vida de aquellos pacientes con más de una manifestación clínica sugestiva de sepsis, pruebas de laboratorio anormales y a los RN con antecedentes maternos de infección de vías urinarias, corioamnionitis, fiebre y ruptura prematura de membranas mayor a 18h; para luego ser inoculadas en frascos de hemocultivo, agar sangre y McConkey, aislar la bacterias e identificar su género y especie; y evaluar los factores de riesgo asociados a esta patología.					
N° DE REGISTRO(en base de datos):			N° DE CLASIFICACIÓN:		
DIRECCIÓN URL (estudio de caso en la web)			http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182015000500003		
ADJUNTO URL (estudio de caso en la web):					
ADJUNTO PDF:			☒ SI		☐ NO
CONTACTO CON AUTORES/ES:			Teléfono: 0995187075		E-mail: monsebp@gmail.com
CONTACTO EN LA INSTITUCION:			Nombre: Biól. Gustavo Saúl Escobar Valdivieso, Msc Teléfono: 0994130303		

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de tutor de la estudiante Verónica Monserrath Buenaño Zambrano , del Programa de Maestría en Bioquímica Clínica, nombrado por la Decana de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. CERTIFICO: que el estudio de caso del examen complejo titulado **“Análisis de la incidencia y factores de riesgo asociados a sepsis neonatal temprana”**, en opción al grado académico de Magíster en Bioquímica Clínica, cumple con los requisitos académicos, científicos y formales que establece el Reglamento aprobado para tal efecto.

Atentamente

BIÓL. SAÚL ESCOBAR VALDIVIESO MSC.

TUTOR

Guayaquil, 21 de septiembre de 2016

DEDICATORIA

A mi esposo, apoyo incondicional;

A mi hijo Daniel, mi motivación.

AGRADECIMIENTO

Un profundo agradecimiento a mi Tutor,
quien con su experiencia ha sabido guiarme,
y a mi familia por su apoyo y
acompañamiento constante.

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL”

FIRMA

BQ.F. VERÓNICA MONSERRATH BUENAÑO ZAMBRANO

ABREVIATURAS

INEC	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
RN	Recién nacido
RNMBP	Recién nacido de muy bajo peso
SNT	Sepsis neonatal temprana
LCR	Líquido cefalorraquídeo
HCGJIM	Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I Menchaca”
PCR	Proteína C reactiva
RPM	Ruptura prematura de membranas
RR	Riesgo relativo
IC	Intervalos de confianza
LR	Likelihood ratio (Cociente de probabilidad)
CAN	Contaje absoluto de neutrófilos
VPP	Valor predictivo positivo
VPN	Valor predictivo negativo
MSP	Ministerio de Salud Pública
OMS	Organización Mundial de la Salud

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DECLARACIÓN EXPRESA.....	vi
ABREVIATURAS.....	vii
TABLA DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
DESARROLLO.....	4
1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 Teorías Generales.....	4
1.2 Teorías Sustantivas.....	8
2. MARCO METODOLÓGICO.....	12
2.1 Metodología.....	12
2.2 Método de Estudio de Casos.....	12
2.3 Premisa.....	13
2.4 Cuadro de Categorías, Dimensiones, Instrumentos y Unidades De Análisis (CDIU) para Sepsis neonatal.....	13
2.5 Descripción De Las Unidades De Análisis.....	14
2.6 Gestión De Datos.....	15
2.7 Criterios Éticos.....	15

3.	RESULTADOS.....	16
3.1	Antecedentes de la Unidad de Análisis.....	16
3.2	Presentación de los Resultados.....	16
4.	DISCUSIÓN.....	17
4.1	Contrastación Empírica.....	17
4.2	Limitaciones.....	18
4.3	Líneas De Investigación.....	18
4.4	Aspectos Novedosos del Estudio de Caso.....	19
5.	PROPUESTA.....	20
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	21
	BIBLIOGRAFÍA.....	22
	ANEXOS.....	23

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1 Clasificación de Sepsis Neonatal.....	5
CUADRO N° 2 Precisión clínica y de laboratorio enfocada en Sepsis Neonatal.....	10
CUADRO N° 3 LR de diversos parámetros tomado después de 4 horas de vida, para el diagnóstico de sepsis de inicio temprano.....	11
CUADRO N° 4 Cuadro CDIU para Sepsis Neonatal.....	13

RESUMEN

La sepsis neonatal es una situación clínica derivada de la invasión y proliferación de microorganismos en el torrente sanguíneo del recién nacido (RN), que se manifiesta dentro de los primeros 28 días de vida, en Ecuador, según las estadísticas del INEC del año 2013 la sepsis bacteriana del recién nacido es la séptima causa de mortalidad en la población infantil.

En México, en el Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I Menchaca” (HCGJIM) se realizó el estudio de sepsis neonatal temprana en pacientes recién nacidos, el mismo que tenía por objeto describir la epidemiología de la SNT en un hospital público, al ser este estudio de cohorte prospectivo permitió analizar muestras de sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR) obtenidos durante las primeras 72 horas de vida de aquellos pacientes con más de una manifestación clínica sugestiva de sepsis, pruebas de laboratorio anormales y a los RN con antecedentes maternos de infección de vías urinarias, corioamnionitis, fiebre y ruptura prematura de membranas mayor a 18h; para luego ser inoculadas en frascos de hemocultivo, agar sangre y McConkey, aislar la bacterias e identificar su género y especie.

De los 14207 pacientes analizados, 1550 fueron hospitalizados y se realizó las pruebas diagnósticas para SNT a 602 neonatos de los cuales 67 presentaron SNT lo que representa una incidencia del 4.7 eventos por cada 1000 RN nacidos vivos, la letalidad de SNT fue de 9% correspondiente a 6 neonatos, el 72% de bacterias aisladas corresponden a bacilos gram negativos y los principales factores de riesgo asociados a SNT fueron: edad materna menor a 15 años, ruptura prematura de membranas mayor a 18 horas, fiebre materna, peso al nacimiento menor a 2500g y edad gestacional menor a 37 semanas.

Palabras clave: Sepsis neonatal, microorganismos, corioamnionitis, líquido cefalorraquídeo, ruptura prematura de membranas.

ABSTRACT

Neonatal sepsis is a clinical situation resulting from the invasion and proliferation of microorganisms in the bloodstream of the newborn (NB), which is manifested within the first 28 days of life, in Ecuador, according to statistics from INEC 2013 the bacterial sepsis of newborn is the seventh leading cause of mortality in children. In Mexico, in the Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I Menchaca” (HCGJIM) a neonatal sepsis study was conducted in newborn patients, which has as objective to describe the epidemiology of the SNT in a public hospital, being this study of prospective cohort allowed us to analyze blood samples and cerebrospinal fluid (CSF) obtained during the first 72 hours of life for those patients with more than one suggestive clinical manifestation of sepsis, irregular laboratory tests and infants with maternal history of urinary tract infection, chorioamnionitis, fever and premature rupture of membranes longer than 18h; then they would be inoculated into blood culture bottles, blood agar and McConkey, isolate the bacteria and identify their type and species.

Among the 14207 analyzed patients, 1550 were hospitalized and diagnostic tests were performed for SNT 602 neonates of which 67 presented NTS representing an incidence of 4.7 events per 1000 NB live births, the lethality of NTS was 9% that correspond to 6 infants, the 72% of isolated bacterias correspond to gram-negative bacilli and the major associated risk factors with NTS were: maternal age less than 15 years, premature rupture of membranes longer than 18 hours, maternal fever, weight birth less than 2500g and gestational age less than 37 weeks.

Key words: Neonatal sepsis, microorganisms, chorioamnionitis, cerebrospinal fluid, premature rupture of membranes.

INTRODUCCIÓN

Según Pérez., Lona., Quiles., Verdugo., & Benítez, (2015, p.387) “Cada año se presentan cuatro millones de muertes neonatales en el mundo y 35% son debidas a procesos infecciosos”. El INEC según las estadísticas del año 2013, demuestra que en Ecuador la sepsis bacteriana del recién nacido es la séptima causa de mortalidad en la población infantil. De allí que, resulta de gran importancia realizar el diagnóstico temprano de sepsis en recién nacidos (durante las primeras 72 horas de vida), debido a que su grado de letalidad es de aproximadamente entre el 20% y 60%, siendo su incidencia en países desarrollados de 1 a 2 casos por nacidos vivos frente a 2.2 a 9.8 casos en países en vías de desarrollo (Pérez, et al. 2015, p.387).

El hemocultivo y el cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR) son pruebas diagnósticas específicas de sepsis neonatal, así como la proteína C reactiva (PCR) en la fase aguda de la patología; sin embargo, es la información epidemiológica la que permite identificar pacientes con altos factores de riesgo, no obstante el 95% de la información epidemiológica a la que se tiene acceso proviene de países desarrollados, cuyos indicadores difieren de los países en vías de desarrollo.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la incidencia y factores de riesgo asociados a Sepsis neonatal temprana (SNT)?

JUSTIFICACIÓN

En el campo de la salud y el diagnóstico de enfermedades, la información epidemiológica es de vital importancia debido a que en el ejercicio diario el conocimiento sobre las características de una enfermedad, la población vulnerable, las vías de transmisión, etc., permiten al facultativo poseer los conocimientos y sagacidad clínica para diagnosticar de manera oportuna y acertada a determinado paciente.

Sin embargo, gran parte de la información epidemiológica acerca de varias enfermedades y en este caso de Sepsis neonatal temprana proviene de otros países, los mismos que epidemiológicamente no se ajustan a la realidad ecuatoriana. Es así, que al establecer los factores de riesgo que con mayor frecuencia se presentan en nuestro país, se pretende aportar en el diagnóstico temprano de sepsis en Recién nacidos para que su incidencia sea cada vez menor.

Objeto de Estudio

Sepsis Neonatal Temprana

Campo de Investigación

Factores de riesgo epidemiológicamente frecuentes que influyen en la incidencia de Sepsis neonatal temprana.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

1. Analizar la incidencia de sepsis neonatal temprana en función de los factores de riesgo hallados en el estudio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar factores de riesgo asociados a sepsis neonatal temprana a los que está expuesta una mujer embarazada.
2. Identificar factores de riesgo asociados a sepsis neonatal temprana a los que está expuesto el Recién nacido.

DESARROLLO

1. MARCO TEÓRICO

1.1 TEORÍAS GENERALES

1.1.1 SEPSIS NEONATAL

Situación clínica derivada de la invasión y proliferación de bacterias, virus y hongos en el torrente sanguíneo del recién nacido (RN) y que se manifiesta dentro de los primeros 28 días de vida, si bien actualmente se tiende a incluir las sepsis diagnosticadas después de esta edad, en RN de muy bajo peso (RNMBP). El hemocultivo positivo confirma la sepsis, y cuando el hemocultivo es negativo, la condición se considera como sepsis clínica. (8)

1.1.2 SOSPECHA CLÍNICA DE INFECCIÓN

Definida como deterioro de variables clínicas: inestabilidad térmica, frecuencia cardíaca mayor de 180 o menor de 100, frecuencia respiratoria mayor de 60 más quejido, retracción o desaturación, intolerancia digestiva o compromiso del estado neurológico; o alteración en las variables hemodinámicas: tensión arterial 2 DS por debajo de lo normal para la edad y llenado capilar de más de tres segundos. (8)

1.1.3 CLASIFICACIÓN

CUADRO N°1: Clasificación de Sepsis neonatal

	SEPSIS DE INICIO TEMPRANO	SEPSIS DE INICIO TARDIO (NOSOCOMIAL)
Transmisión	Vertical	Horizontal
Inicio	Primeras 72 horas*	Después de las 72 horas
Gérmenes frecuentes	Se localizan en el canal de parto: En países desarrollados, predominan estreptococos del grupo B, <i>Eschericia coli</i> (más frecuente en RN PMBAN). En países en vías de desarrollo, además se reportan <i>Klebsiella</i> y <i>S. aerus</i>. <i>Listeria monocytogenes</i>, aunque menos común, se asocia con enfermedad invasiva en RN, abortos espontáneos o muerte fetal.	Microorganismos procedentes del entorno hospitalario, por contacto del personal de salud (colonización de manos) o a partir de material contaminado: Gérmenes Gram positivos: <i>Staphylococcus epidermidis</i> (S. coagulasa negativo) Gérmenes Gram negativos: <i>Eschericia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratia</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. Cándida sp.
Presentación clínica más frecuente	Neumonía usualmente más grave y de mayor mortalidad.	Bacteriemia y meningitis.
Mortalidad	10%-30%	10%-15%

*Si se presenta en las primeras 24 horas, se denomina sepsis de inicio muy temprano y se asocia con alta mortalidad y rara vez se presenta con meningitis.

FUENTE: Ministerio de Salud Pública. Sepsis neonatal. Guía de Práctica Clínica. Primera edición. Quito: MSP; 2015. Disponible en <http://salud.gob.ec>

1.1.4 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

1.1.4.1 SEPSIS DE INICIO TEMPRANO

Su identificación clínica es difícil; puede presentarse de una manera muy diversa y con sintomatología similar a otras enfermedades. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son:

1. Clínica inicial:

- a. Mala evolución
- b. Mala regulación de la temperatura (fiebre/hipotermia)
- c. Dificultad y mala tolerancia a la alimentación
- d. Hipoactividad
- e. Taquicardia inexplicable (8)

2. Signos de agravamiento: a los anteriores se suman;

- a. Problemas digestivos: vómitos, distensión abdominal, hepatomegalia, ictericia.
- b. Problemas respiratorios: quejido, aleteo, retracciones, respiración irregular, taquipnea, cianosis, apneas.
- c. Problemas neurológicos: hipoactividad, irritabilidad, hipotonía, temblores, convulsiones, fontanela tensa. (8)

3. Fase tardía: a los anteriores agravados, se suman:

- a. Problemas cardiocirculatorios: palidez, cianosis, piel marmórea (mal aspecto).
Hipotermia, pulso débil, respiración irregular, llenado capilar lento, hipotensión.
 - b. Problemas hematológicos: ictericia, hiperbilirrubinemia, hepatoesplenomegalia, palidez, púrpuras, hemorragias. (8)
- Existe evidencia que sugiere que la presencia de tres o más signos clínicos tienen una utilidad moderada para la predicción de sepsis de inicio temprano.
 - Se recomienda la toma de cultivos de sangre e inicio de tratamiento antibiótico empírico ante la presencia de tres o más signos clínicos de infección, ya que, aunque la evidencia es moderada, la severidad de la patología lo demanda. (8)

1.1.4.2 SEPSIS DE INICIO TARDÍO

Tiene una evolución más insidiosa y puede ser más difícil de identificar porque se produce sobre enfermedades subyacentes graves y con frecuencia los pacientes están con tratamiento antibiótico. Los signos clínicos pueden incluir una taquicardia inexplicable, aumento en los requerimientos de oxígeno y necesidad de reiniciar la ventilación, además de:

- Historia de dificultad para alimentarse
- Movimientos solo a estímulos
- Hipotermia o hipertermia
- Frecuencia respiratoria mayor a 60 rpm
- Retracciones torácicas graves
- Historia de convulsiones

Los cambios en la FC pueden ser una herramienta en el diagnóstico precoz de la sepsis tardía. La anormalidad puede detectarse 24 horas antes del diagnóstico de sepsis clínica o probada y pueden reducir la variabilidad de su ritmo con desaceleraciones transitorias. (8)

1.1.4.3 SEPSIS MICÓTICA

La infección por *Candida* actualmente tiene mucha importancia debido a la sobrevida de los RN de bajo peso. La tasa de mortalidad es mayor en la sepsis de inicio tardío por este germen y por los Gram negativos.

Debe sospecharse candidiasis sistémica en un RN de muy bajo peso al nacer con deterioro clínico progresivo a pesar del tratamiento antibiótico y presencia de factores de riesgo (prematurez, procedimientos invasivos, hospitalización prolongada, hacinamiento hospitalario). Trombocitopenia (menor a $100.000/\text{mm}^3$ se observa en 60% de las sepsis micóticas sobre todo cuando se trata de candidiasis invasivas. Se recomienda en la infección

por *Candida* invasiva, realizar examen de fondo de ojo, ecografía cardíaca y renal en busca de vegetaciones. (8)

▪ **Tratamiento antimicótico:**

El objetivo del tratamiento empírico por hongos es iniciarlo cuando se sospeche que la infección en el huésped no podrá esperar las 24 o 48 horas en que los cultivos pueden frecuentemente ser positivos. (8)

1.2 TEORÍAS SUSTANTIVAS

1.2.1 FACTORES DE RIESGO DE SEPSIS DE INICIO TEMPRANO

MATERNOS:

1. Ruptura prematura de membranas mayor a 18h.
2. Fiebre materna.
3. Corioamnionitis.
4. Colonización de microorganismos del tracto genital materno.
5. Infección génito-urinario materna en el parto.
6. Líquido amniótico fétido.
7. Bacteriuria materna. (8)

NEONATALES:

1. Prematurez
2. Peso bajo al nacer
3. Género masculino
4. Apgar a los 5 minutos menor a 6. (8)

1.2.2 FACTORES DE RIESGO DE SEPSIS DE INICIO TARDÍO

1. Prematurez
2. Procedimientos invasivos
 - a. Intubación endotraqueal prolongada
 - b. Colocación de catéteres intravasculares
 - c. Nutrición parenteral
 - d. Drenajes pleurales
3. Hospitalización prolongada
 - a. Hacinamiento hospitalario, falta de espacio físico. (8)

1.2.3 PRUEBAS DE LABORATORIO

- No hay un biomarcador o prueba única para el diagnóstico de sepsis de inicio temprano o tardío.
- El hemocultivo positivo se considera el estándar de oro.
- Según la evidencia disponible por el momento, la reacción en cadena de polimerasa no es muy factible de usar por su elevado costo y las contradicciones que existen en cuanto a la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN; por lo que no se la recomienda para diagnóstico de sepsis. (Ver Cuadro N°2)
- Las pruebas diagnósticas y las reglas de predicción para identificar sepsis son entre pobres y moderadas, su utilización sin tener en cuenta sus limitaciones, lleva a sobre diagnosticar y/o sobre tratar.
- Se recomienda analizar los cocientes de probabilidad (LR por sus siglas en inglés: likelihood ratio)
- Los LR expresan la posibilidad de que un determinado resultado de una prueba provenga de un paciente enfermo comparado con uno sano. (Ver Cuadro N°3)

- Se recomienda utilizar micrométodos para analizar exámenes de sangre en neonatos y así evitar la extracción excesiva de sangre. (8)

CUADRO N°2: Precisión clínica y de laboratorio enfocada en Sepsis neonatal

Los exámenes empleados para identificar la sepsis neonatal	Sensibilidad %	Especificidad %	Valor predictivo negativo %	Valor predictivo positivo %
Signos clínicos				
a.	90	22,5	85,7	30,3
b.	No reportado	< 31,3	N o reportado	N o reportado
c.	92	53	99	4
Parámetros de la biometría hemática y activación de neutrófilos				
Parámetros de la biometría hemática	Leucocitos:0,1-22,6 CAN : 0 , 8 - 1 8 , 8 I/T: 13,1-54,6 Plaquetas:0,8-22,9	Leucocitos:79,3-99,9 CAN : 9 5 , 2 - 9 9 , 9 I/T: 61,9-95,7 Plaquetas:89-99,4	N o reportado	N o reportado
Neutrófilos CD64	75-100	68-77	96-100	2-29
Neutrófilos CD11b	96	100	100	99
Reactantes de fase aguda				
PCR única medición	64	56	93	14
PCR seriado	88,9	73,8	99,7	6
Procalcitonina	60-88	54-80	90	50
Interleucina IL 8	44	90	83	58
IL6	63-76	73-76	66-81	67-74
IL8+PCR	80	87	93	68
IL6+PCR	89	73	90	70

a. Quejido, distensión abdominal, residuos importantes previa alimentación, retracciones torácicas, letargo, taquicardia, hipertermia, pobre alimentación.

b. Aumento de los signos (apnea, bradicardia, necesidad de oxígeno, ventilación asistida, conteo de células blancas, relación I:T, glucosa), intolerancia a la alimentación/problemas gastrointestinales, letargia/hipotonía, inestabilidad de la temperatura, acidosis metabólica inexplicable, neutropenia, hipotensión.

c. Signos clínicos usados, pero no reportados en esta publicación

Fuente: Wynn JL, Wong HR, Shanley TP, Matthew J. Bizzarro MJ, Saiman L, Polin RA. Time for a Neonatal Specific Consensus Definition for Sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2014; 15 (6): 523-528.

CUADRO N°3: LR de diversos parámetros tomado después de cuatro horas de vida, para el diagnóstico de sepsis de inicio temprano

Recuento leucocitos totales /uL	LR
0-4.990	80,5
5.000-9.990	6,4
10.000-14.990	1,0
15.000-19.990	0,41
Mayor a 20.000	0,16
Recuento de neutrófilos absolutos/uL	
0-990	115
1.000-1.990	51,7
2.000-4.990	6,9
5.000-9.990	0,64
Mayor a 10.000	0,31
Razón inmaduros / totales (I/T)	
0-0,1499	0,25
0,15-0,299	1,2
0,3-0,4499	3,1
0,45-0,599	8,8
Mayor a 0,6	10,7

Fuente: Newman TB, Puopolo KM, Wi S, et al. Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. Pediatrics 2010; 126:903–909.

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 METODOLOGÍA

2.1.1 TIPO DE ESTUDIO

La investigación fue de tipo cuali-cuantitativa, descriptiva y prospectiva, porque se basa en el estudio y recopilación bibliográfica de investigaciones realizadas en Sepsis neonatal temprana en el apoyo del diagnóstico necesario para la identificación y caracterización de variables clínicas, de laboratorio y valoración de factores de riesgo a los que están expuestos el recién nacido y su madre.

2.2 MÉTODO DE ESTUDIO DE CASOS

Durante el período del 7 de marzo de 2013 al 4 de julio de 2014, se realizó el estudio de todos los pacientes nacidos en el Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” (HCGJIM), diagnosticándose con sepsis neonatal temprana los RN que presentaron crecimiento microbiano en los cultivos de sangre o líquido cefalorraquídeo (LCR) cuyas muestras fueron obtenidas antes de las 72 h de vida.

Los RN considerados para la toma de muestras fueron aquellos que presentaban más de una manifestación clínica (fiebre, hipotermia, taquicardia, bradicardia, polipnea) y/o pruebas de laboratorio anormales (leucocitosis, leucopenia o PCR mayor a 1.0mg/dL) y aquellos RN con cualquier manifestación clínica (hipoactividad, hiporexia, vómito o diarrea, dificultad respiratoria, cianosis) y uno o más antecedentes maternos (infección de vías urinarias activa, corioamnionitis, fiebre y ruptura prematura de membranas mayor a 18 h).

2.3 PREMISA

El tipo y cantidad de factores de riesgo a los que están expuestos la madre y el recién nacido están asociadas a la incidencia de sepsis neonatal temprana.

2.4 CUADRO DE CATEGORÍAS, DIMENSIONES, INSTRUMENTOS Y UNIDADES DE ANÁLISIS (CDIU)

CUADRO N°4: Cuadro CDIU SEPSIS NEONATAL TEMPRANA

CATEGORÍA	DIMENSIONES	INSTRUMENTOS	UNIDAD DE ANÁLISIS
Diagnóstica	Manifestaciones clínicas del neonato Pruebas de laboratorio Antecedentes maternos	Historia Clínica Reportes de laboratorio Referentes empíricos	Neonatos del HCGJIM
Microbiológica	Medios de cultivo Técnica de recolección	Resultados de hemocultivo Antibiograma Protocolos	Neonatos del HCGJIM
Asistencial	Controles prenatales Cobertura de salud	Historia Clínica	Madres de neonatos
Sociocultural	Nivel de instrucción Costumbres	Historia Clínica	Madres de neonatos

Fuente: (Buenaño, 2016)

2.5 DESCRIPCIÓN DE LAS UNIDADES DE ANÁLISIS

2.5.1 CATEGORÍAS

Se consideraron 4 categorías: Diagnóstica, que ayuda a evaluar al neonato para considerarlo o no como paciente séptico; Microbiológica, permite revisar protocolos con el fin de calificar una muestra como positiva para determinado microorganismo o como contaminada; Asistencial, porque es un indicativo del control en el embarazo según el nivel de cobertura y Sociocultural desde el punto de vista de costumbres y creencias de las madres.

2.5.2 DIMENSIONES

Siendo las dimensiones aspectos específicos de cada categoría, se ha considerado aquellas que permitan obtener un indicador puntual para considerar un RN como paciente séptico o no.

2.5.3 INSTRUMENTOS

Los instrumentos de análisis se basan principalmente en la Historia Clínica tanto de los neonatos como de sus madres para la verificación de la evolución clínica del paciente y la existencia de factores de riesgo asociados a sepsis neonatal, así también los reportes de laboratorio para la evaluación de pruebas diagnósticas.

2.5.4 UNIDAD DE ANÁLISIS

Monje (2011, p. 122) refiere que la Unidad de análisis “puede estar conformada por personas, organizaciones, objetos, estará de acuerdo con los objetivos y el problema a

investigar”; por lo tanto para la presente investigación la unidad de análisis está conformada por los neonatos del Servicio de Neonatología del HCGJIM y sus madres.

2.6 GESTIÓN DE DATOS

En esta investigación se diagnosticó a los RN hospitalizados con SNT cuando existió crecimiento microbiano en cultivos de sangre o LCR obtenidos antes de la 72 horas de vida, los hemocultivos fueron inoculados en frascos BacT/ALERT PF Pediatric FAN vigilándose el crecimiento en el Sistema automatizado Bact/ALERT 3D durante 7 días; aquellos calificados como positivos (crecimiento de bacterias gramnegativas o levaduras en uno o más frascos) fueron resembrados en agar sangre y McConkey; la muestra de LCR fue inoculada en los mismos medios enriquecidos y en agar sangre considerando como significativo cualquier crecimiento bacteriano, para luego identificar género y especie de las bacterias mediante el sistema automatizado MicroScan autoSCAN-4 System.

2.7 CRITERIOS ÉTICOS

Siendo la investigación de tipo retrospectiva, basada en el estudio y recopilación bibliográfica, no se ha puesto en riesgo la vida y la salud de las personas en las que se realiza la investigación, respetándose en todo momento la Confidencialidad ya que no se manejan nombres.

3. RESULTADOS

3.1 ANTECEDENTES DE LA UNIDAD DE ANÁLISIS

El Servicio de Neonatología del Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I Menchaca” está conformado por Terapia intensiva neonatal con 18 cunas y 67 cunas en Terapia intermedia, se incluyó en la cohorte a todos los pacientes nacidos en el hospital con la finalidad de identificar una prevalencia de SNT del 0,1% y la búsqueda adecuada de los factores de riesgo, siendo los RN con características sugestivas de SNT aquellos con más de una manifestación clínica, pruebas de laboratorio anormales y antecedentes maternos sugestivos de sepsis.

3.2 PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

El estudio de sepsis neonatal temprana en base a su incidencia y factores de riesgo fue analizado en función de 4 categorías: Diagnóstica, que permite valorar a aquellos neonatos con características sugestivas de SNT mediante sus manifestaciones clínicas, reportes de laboratorio catalogados como anormales y antecedentes maternos de infecciones de vías urinarias, RPM, fiebre, etc., reportadas en la Historia Clínica y demás referentes; Microbiológica, útil para la identificación porcentual de bacterias gram negativas y gram positivas de mayor frecuencia; Asistencial y sociocultural, con el fin de identificar los factores de riesgo asociados a los controles prenatales y nivel de atención. (Ver Cuadro N°4)

4. DISCUSIÓN

4.1 CONTRASTACIÓN EMPÍRICA

El estudio de la Sepsis neonatal en el mundo tiene una gran connotación debido a la población a la que dicha patología afecta pues en el mundo cada año existen muertes neonatales debidas a procesos infecciosos, la incidencia de la SNT en los países del mundo es variada encontrando menores porcentajes en países desarrollados a diferencia de los países catalogados como en vías de desarrollo. En Ecuador durante el año 2013 la Sepsis neonatal constituía la séptima causa de mortalidad en la población infantil (Estadísticas INEC. 2013), de allí que en nuestro país se han ido adoptando medidas con el fin de reducir estas estadísticas.

En nuestro país se han realizado investigaciones similares a la realizada en México, la misma que es objeto de análisis del presente estudio de caso, en las que han sido consideradas tanto las manifestaciones clínicas del neonato y resultados de laboratorio, como los antecedentes maternos y factores de riesgo sugestivos de SNT; determinando en ambos estudios factores importantes para el diagnóstico de sepsis neonatal tales como la prematurez, el peso bajo al nacer, recuento de leucocitos, neutrófilos, fiebre y otras manifestaciones clínicas; entre los antecedentes maternos las investigaciones concuerdan en que aquellas madres con antecedentes de infecciones de vías urinarias y ruptura prematura de membranas mayor a 18 horas contaminan al feto provocando infecciones de transmisión vertical lo que conlleva a la hospitalización, observación, estudio y uso temprano de antibióticos en el neonato.

Así también, en estudios realizados en el país se ha tomado en cuenta el tiempo que la madre ha estado en labor de parto como una variable sugestiva de sepsis neonatal, han sido consideradas además madres con hipertensión gestacional debido a que sus hijos al nacer son valorados con un APGAR bajo, lo que involucra la hospitalización del neonato cuya estadía genera el uso de métodos invasivos (uso de catéteres de vía periférica y de vía central)

aumentando el riesgo de infecciones nosocomiales asociadas al uso de catéteres. De igual manera, concuerdan en que no existen pruebas de laboratorio específicas para el diagnóstico oportuno de sepsis neonatal por lo que la mayoría son tratados como pacientes sugestivos de sepsis; sin embargo coinciden en que las pruebas de laboratorio que aportan mayor información siguen siendo la Biometría hemática, PCR y Procalcitonina.

Es necesario resaltar que la población considerada en los estudios realizados en Ecuador es menor que la utilizada en la investigación mexicana, aún así coinciden en que los microorganismos aislados en dichos pacientes corresponden en su mayoría a Enterobacterias.

4.2 LIMITACIONES

Esta investigación tuvo como limitante la muestra hospitalaria ya que la misma puede ser diferente a la población de la cual procede, sin embargo debido a la heterogeneidad de los pacientes las diferencias pueden ser menores.

4.3 LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

La población infantil se halla catalogada como grupo de atención prioritaria, es así que su cuidado es considerado como política de estado en nuestro país y la reducción de la muerte infantil como Objetivo del milenio según la OMS, por esta razón es de gran importancia que se sigan realizando investigaciones para reducir la incidencia de sepsis neonatal, controlando principalmente aquellos factores de riesgo que pueden ser evitados al mejorar la atención en el nivel primario.

4.4 ASPECTOS NOVEDOSOS DEL ESTUDIO DE CASO

En esta investigación además de ser considerados parámetros de laboratorio y manifestaciones clínicas, se han considerado también factores de riesgo asociados a la población, sus costumbres y el nivel de atención sanitaria al que se acogen.

5. PROPUESTA

Al conocer la importancia del diagnóstico temprano de Sepsis neonatal en pacientes Recién nacidos y, la influencia de los factores de riesgo en la incidencia de esta patología se propone establecer un Perfil de los factores de riesgo más frecuentes en la sepsis neonatal, acordes a la epidemiología de nuestra población.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. La edad materna menor a 15 años, la ruptura prematura de membranas mayor a 18 horas y la presencia de fiebre en la madre durante el parto son factores de riesgo asociados a Sepsis neonatal temprana a los que está expuesta una mujer embarazada.
2. La edad gestacional menor a 37 semanas y el peso al nacer menor a 2500g constituyen factores de riesgo asociados a sepsis neonatal temprana a los que está expuesto el neonato.
3. La incidencia de sepsis neonatal temprana fue de 4.7 eventos por 1000 recién nacidos vivos y su letalidad fue de 9%.

RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones acerca de los factores de riesgo asociados a la incidencia de sepsis neonatal temprana en cada uno de los hospitales del país o al menos en aquellos pertenecientes al MSP, con el fin de tener información epidemiológica actualizada y acorde a nuestra realidad poblacional.
2. Adecuar y mejorar el primer nivel de atención médica pública, para que de esta manera la población materna tenga mayor acceso a controles perinatales y manejo eficiente de los factores de riesgo para evitar sepsis neonatal y sus implicaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, G., Alcalá, K., Abarca, D. & Bao, V. (2016). Características microbiológicas y terapéuticas de la Sepsis neonatal confirmada en un Hospital de Lima, Perú. *Revista peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 33 (1), 74-82. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342016000100010&script=sci_arttext
- Avilés, T. & Cabrera, P. (2013). Factores relacionados a Sepsis neonatal. Recuperado de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/2765/1/09834.pdf>
- Chango, A. & Reino, M. (2014). Valor predictivo de score de sepsis en la sospecha de sepsis neonatal en recién nacidos de madres que presentaron factores de riesgo, Servicio de Neonatología del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, en el período agosto del 2012 a julio del 2013. Recuperado de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/235/1/UNACH-EC-MEDI-2014-0008.pdf>
- Flores, J. & Gancino, M. (2012). Factores obstétricos que inciden en la sepsis neonatal en pacientes que fueron atendidas en el Hospital Gineco-Obstétrico isidro Ayora en el período Enero a Diciembre 2011. Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2916/1/T-UCE-0006-61.pdf>
- Gabriel, L. (2013). Determinación de los principales factores de riesgo maternos en relación a la ruptura prematura de membranas en pacientes atendidas en el Hospital Provincial Docente Ambato período enero 2011 – enero 2012. Recuperado de <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3692/1/GABRIEL%20FLORES%20LENI%20CARLOS.pdf>
- Marín, M., Iglesias, J., Bernárdez, I. & Rendón, M. (2015). Características de la sepsis neonatal en una Unidad de Cuidados Intensivos neonatales de atención privada. *Revista mexicana de Pediatría*, 82 (3), 93-97. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2015/sp153c.pdf>
- Mesquita, M., Ávalos, S., Godoy, L. & Álvarez, E. (2011). Valor predictivo del hemograma en la sepsis neonatal. *Pediatría*, 38 (1), 23-30. Recuperado de <http://scielo.iics.una.py/pdf/ped/v38n1/v38n1a05.pdf>
- Ministerio de Salud Pública. Sepsis neonatal. Guía de Práctica Clínica. Primera edición. Quito: MSP; 2015. Recuperado de <http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/GPC-Sepsis-neonatal.pdf> GPC 2015
- Pérez, Y., Clemades, A., Mederos, Y., Navarro, M., Arbelo, I. & Molina, O. (2015). Sepsis neonatal grave en una unidad de cuidados intensivos. *Revista cubana de Pediatría*, 87 (1), 50-60. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75312015000100007&script=sci_arttext&tlng=en
- Ramos, S. (2014). Proteína C reactiva y procalcitonina como herramientas diagnósticas tempranas y de seguimiento en neonatos con factores de riesgo para sepsis neonatal temprana. Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7382/11.27.000894.pdf?sequence=4>

ANEXOS

ANEXO N° 1

Artículo de Estudio Clínico “Sepsis Neonatal Temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un Hospital público del occidente de México”



Sepsis neonatal temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un hospital público del occidente de México

René Oswaldo Pérez, Juan Carlos Lona, Moisés Quiles, Miguel Ángel Verdugo, Elba Patricia Ascencio y Edith Adriana Benítez

Early neonatal sepsis, incidence and associated risk factors in a public hospital in western Mexico

Background: Early neonatal sepsis (EOS) is the second leading cause of death in the first week of life. Epidemiology differs in developed and developing countries. **Aim:** To describe the epidemiology of EOS among newborn patients in a public hospital in western Mexico. **Methods:** A prospective cohort study was performed in newborns of Nuevo Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I Menchaca”. EOS was diagnosed with blood cultures or cultures of cerebrospinal fluid within the first 72 h of life. We analyzed risk factors (RF) by multivariate analysis with logistic regression. **Results:** We identified an EOS incidence of 4.7 events per 1,000 live births. Seventy two percent of the isolated bacteria were gram negative bacilli. Factors associated with EOS were maternal age ≤ 15 years (OR 3.50; 95% CI 1.56-7.85), rupture of membranes > 18 h (OR 2.65; 95% CI 1.18-5.92), maternal fever (OR 6.04; 95% CI 1.54-23.6), birth weight $\leq 2,500$ g (OR 4.82; 95% CI 2.38-9.75) and gestational age < 37 weeks (OR 3.14; 95% CI 1.58-6.22). **Conclusions:** In addition to the RF known for EOS an independent association was observed with maternal age ≤ 15 years.

Key words: Sepsis, risk factors, adolescent pregnancy, bacteremia, meningitis.

Palabras clave: Sepsis, factores de riesgo, embarazo adolescente, bacteriemia, meningitis.

Nuevo Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca”, México.

Servicio de Neonatología (ROP, MQ).
Servicio de Infectología (JCL)

Residente Servicio de

Pediatría (MAV).

Químico farmacobiólogo (EPA).

Universidad de Guadalajara

Centro Universitario de Ciencias de

la Salud, Estudiante de

Medicina (EAB).

No existió financiamiento externo.

Los autores declaran no presentar

conflictos de interés en la

realización del estudio.

Recibido: 26 de enero de 2015

Aceptado: 4 de mayo de 2015

Correspondencia a:

Juan Carlos Lona Reyes

carloslona5@hotmail.com

Introducción

Cada año se presentan cuatro millones de muertes neonatales en el mundo y 35% son debidas a procesos infecciosos¹⁻³. La sepsis neonatal temprana (SNT) se define como una infección demostrada en sangre o en líquido cefalorraquídeo (LCR) en pacientes con 72 h de vida o menos². En Estados Unidos de América (E.U.A.) la incidencia de SNT se estima en 1 a 2 casos por 1.000 nacidos vivos^{2,4}; sin embargo, en países en vías de desarrollo varía de 2,2 a 9,8 eventos por 1.000 nacidos vivos¹. En México, la sepsis bacteriana del recién nacido (RN) es la segunda causa de muerte (12,3%), en pacientes de uno a seis días de vida⁵.

Los RN presentan mayor riesgo de infecciones debido, entre otras condiciones, a su inmadurez inmunológica⁶. Se ha observado que los pacientes más afectados por SNT son los RN prematuros o de muy bajo peso al nacimiento, principalmente los que son expuestos a infecciones maternas o con disrupción de las membranas amnióticas^{2,7-12}. *Streptococcus agalactiae* es el principal microorganismo aislado en estas infecciones; sin embargo, en países en vías de desarrollo las bacterias predominantes son enterobacterias. Las razones de estas diferencias no son claramente entendidas¹.

El estándar de oro para el diagnóstico de SNT lo

conforman el hemocultivo y el cultivo de LCR¹³⁻¹⁵. Los reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR) han evidenciado utilidad como pruebas de tamizaje por su alto valor predictor negativo^{14,16}. Las pruebas diagnósticas moleculares no han mostrado mayor efectividad que los estudios microbiológicos¹³ pero es probable que en pacientes con antecedente de exposición a antimicrobianos su utilidad sea mayor.

Debido a que las manifestaciones clínicas de SNT son inespecíficas¹⁷⁻¹⁹ y que existen dificultades en la obtención oportuna de los resultados de estudios microbiológicos, la información epidemiológica permite identificar a los pacientes con mayor riesgo de sepsis y ayuda a valorar la utilidad de la aplicación universal de medidas preventivas de SNT.

Se estima que más de 95% de la información epidemiológica se origina en países desarrollados, donde los indicadores difieren de los de países en vías de desarrollo¹. En el Nuevo Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” (HCGJIM) no existen datos históricos en el tema. El objetivo de este estudio fue describir la epidemiología de la SNT en los RN de este hospital.

Material y Métodos

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo, en el HCGJIM de la Ciudad de Guadalajara, Jalisco. La



institución otorga servicios de salud a población abierta de escasos recursos económicos. El hospital no tiene un programa de diagnóstico materno prenatal de infección por *S. agalactiae*. El servicio de neonatología está integrado por la terapia intensiva neonatal con 18 cunas y 67 cunas de terapia intermedia.

El período de estudio fue desde el 7 de marzo de 2013 al 4 de julio de 2014. Se incluyeron en la cohorte todos los pacientes nacidos en el HCGJIM. El cálculo del tamaño de muestra se realizó con la finalidad de identificar una prevalencia de SNT de 0,1% en población infinita. El tamaño de la muestra también fue adecuado para la búsqueda de los factores de riesgo.

El diagnóstico de SNT se estableció cuando los RN hospitalizados presentaron crecimiento microbiano en cultivos de sangre o LCR obtenidos antes de las 72 h de vida. La toma de estudios microbiológicos fue acorde al protocolo de diagnóstico de sepsis neonatal de la institución²⁰. Se tomaron muestras para cultivos de sangre y LCR a los RN con más de una manifestación clínica y/o pruebas de laboratorio anormales (fiebre, hipotermia, taquicardia, bradicardia, polipnea, leucocitosis, leucopenia o PCR > 1,0 mg/dl) y a los RN con cualquier manifestación clínica y uno o más de los siguientes antecedentes maternos: infección de vías urinarias activa, corioamnionitis, fiebre y ruptura prematura de membranas > 18 h.

Manifestaciones clínicas consideradas como sugestivas de sepsis fueron hipoactividad, dificultad para la alimentación (hiporexia, vómito o diarrea), dificultad respiratoria y cianosis^{17,20}.

Definiciones

Leucocitosis: Recuento de leucocitos séricos > 34 x 10³/mm³. **Leucopenia:** recuento leucocitario < 5 x 10³/mm³. **Fiebre:** temperatura cutánea ≥ 37,5°C. **Hipotermia** < 35,5°C. **Bradicardia:** frecuencia cardíaca (FC) < 100 latidos/min. **Taquicardia:** FC > 180 latidos/min. Los valores de PCR > 1,0 mg/dl se clasificaron como anormales.

Para los hemocultivos se obtuvieron dos o más muestras de sangre por punción de venas periféricas en sitios diferentes, con técnica aséptica²¹ y se inocularon en frascos de hemocultivo (BacT/ALERT PF Pediatric FAN®). Se vigiló el crecimiento microbiano en sistema automatizado BacT/ALERT®3D durante 7 días. Los cultivos detectados como positivos fueron resemebrados en agar sangre y McConkey. La prueba se consideró positiva si existió crecimiento de bacterias gramnegativas o levaduras en uno o más frascos. Para bacterias grampositivas se clasificaron como cultivos positivos si el aislamiento se realizó en dos o más frascos; si sólo se aislaron de un frasco se catalogaron como contaminantes^{15,21,22}.

La obtención de LCR se realizó mediante punción lumbar con técnica estéril. La muestra se inoculó en medios enriquecidos (BacT/ALERT PF Pediatric FAN®) y en agar

sangre. Cualquier crecimiento bacteriano se consideró significativo excepto el hallazgo de *Staphylococcus coagulasa* negativa; en estos casos se clasificó como evento infeccioso, sólo si existió anomalía en el número de leucocitos y glucosa del estudio citológico de LCR.

En las bacterias aisladas en cada evento de SNT se identificó género y especie por el sistema automatizado *MicroScan autoSCAN-4 System*®.

De los expedientes clínicos de los RN se obtuvo información sobre factores de riesgo para SNT, ya definidos en la literatura científica:^{2,7-11} número de consultas en control prenatal, vía de nacimiento, género del RN, edad gestacional estimada por escala de Capurro o Ballard, Apgar al minuto de vida, peso al nacimiento y factores de riesgo maternos (ruptura de membranas > 18 h, infección de vías urinarias, corioamnionitis y fiebre materna); también se registró la edad materna.

Análisis estadístico

Se estimó la incidencia de SNT en el total de pacientes RN y posteriormente para subgrupos, en función de la presencia o ausencia de los factores estudiados.

De las variables cualitativas se cuantificaron frecuencias y porcentajes. La búsqueda de asociación con la variable dependiente se evaluó con riesgo relativo e intervalos de confianza a 95% en programa open-epi (http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm). De las variables cuantitativas se calculó media, desviación estándar (DE) y rangos. La búsqueda de asociación con la variable dependiente se realizó con análisis bivariado con prueba t de Student. Para las variables peso, edad gestacional, edad materna y control prenatal se generaron variables dicotómicas con diferentes puntos de corte. Las variables que presentaron valor de p menor a 0,2 se incluyeron en análisis multivariado con regresión logística en programa IBM SPSS Statistics Versión 20.

El proyecto fue aprobado por los Comités de Ética e Investigación del HCGJIM con registro # 00073.

Resultados

Durante el período de estudio se registraron 14.207 pacientes RN, 51,4% (n: 7.298) del género masculino y 48,6% (n: 6.907) del género femenino; en dos pacientes éste fue indeterminado por presentar genitales ambiguos.

La edad gestacional promedio fue de 38,5 semanas (máxima 42, mínima 22, DE 2,11). El 12% (n: 1.711) presentó una edad gestacional menor a 37 semanas y 2,1% (n: 295) edad igual o menor a 32 semanas.

El peso promedio de los pacientes fue de 3.010 g (máximo 5.725, mínimo 440, DE 595,6). El 22,3% (n: 3.172) presentó peso ≤ 2.500 g y 2,5% (n: 360) peso muy bajo al nacimiento ≤ 1.500 g.

El promedio de edad de las madres fue de 24 años



Tabla 1. Aislamientos microbianos en pacientes con sepsis neonatal temprana

Género y especies	n (%)
Enterobacterias	43 (63,2%)
<i>Escherichia coli</i>	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
<i>Enterobacter cloacae</i>	7
<i>Citrobacter sp</i>	2
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1
<i>Shigella sp</i>	1
<i>Streptococcus</i>	12 (17,6%)
<i>Streptococcus bovis</i>	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1
<i>Enterococcus</i>	4 (5,9%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	3
<i>Enterococcus faecium</i>	1
<i>Staphylococcus</i>	3 (4,4%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	1
Bacterias no fermentadoras	3 (4,4%)
<i>Pseudomonas sp</i>	2
<i>Acinetobacter sp</i>	1
<i>Flavobacterium sp</i>	3 (4,4%)

El número de aislamientos microbianos excede el número de eventos de sepsis neonatal por un cultivo poli-microbiano.

(máxima 48, mínima 12, DE 6,48). El 4,8% (n: 680) refirió antecedente de control prenatal nulo y 23,7% (n: 3.365) acudió a menos de cinco consultas de evaluación antes del parto. El 59,5% (n: 8.452) de los nacimientos fue por vía vaginal y el resto por cesárea 40,5% (n: 5.755).

Se hospitalizó 10,9% (n: 1.550) de los RN y se realizó escrutinio diagnóstico para SNT en 4,2% (n: 602). Se cuantificaron 67 eventos de SNT, la incidencia fue de 4,7 eventos por 1.000 RN vivos (IC 95% 3,7-5,9).

En 94% (n: 63) se obtuvo aislamiento microbiano en el torrente sanguíneo, uno en LCR y en tres casos se recuperó de ambos sitios. El 72% de las bacterias identificadas fueron bacilos gramnegativos, las más frecuentes *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Los pacientes con infección por bacterias gramnegativas tuvieron menor peso y edad gestacional (2.028 g/35,1 semanas) que los pacientes con infección por bacterias grampositivas (2.562 g/36,9 semanas) (p 0,02; p 0,04). Al comparar los pacientes con infección por *E. coli* y *K. pneumoniae* no se encontraron diferencias significativas. El total de bacterias identificadas se muestra en la Tabla 1.

La incidencia de SNT en función de la presencia o ausencia de factores de riesgo y el riesgo relativo con intervalos de confianza al 95% se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Incidencia de sepsis neonatal temprana en función de factores de riesgo con riesgo relativo e IC al 95%

	n de pacientes	Eventos de SNT	Incidencia/ 1.000 pacientes	RR	IC 95%	p
Género						
Femenino	6.907	34	4,9	1,1	0,67-1,7	0,72
Masculino	7.298	33	4,5			
Vía de nacimiento						
Cesárea	5.755	34	5,9	1,5	0,94-2,4	0,08
Parto	8.452	33	3,9			
Control prenatal nulo						
Presente	680	3	4,4	0,93	0,29-2,96	0,90
Ausente	13.527	64	4,7			
Control prenatal < 5 consultas						
Presente	3.365	26	7,7	2,04	1,25-3,33	0,003
Ausente	10.842	41	3,8			
Madre ≤ 15 años						
Presente	442	7	15,8	3,63	1,67-7,90	< 0,001
Ausente	13.765	60	4,35			
Ruptura de membranas > 18 h						
Presente	132	9	68,1	16,55	8,37-32,7	< 0,001
Ausente	14.075	58	4,12			
Corioamnionitis materna						
Presente	19	3	157,8	35	12-101,7	< 0,001
Ausente	14.188	64	4,51			
Infección urinaria materna						
Presente	99	5	50,5	11,49	4,7-27,9	< 0,001
Ausente	14.108	62	4,4			
Fiebre materna						
Presente	23	3	130,4	28,91	9,79-85,4	< 0,001
Ausente	14.184	64	4,5			
Apgar al minuto ≤ 7						
Presente	1.883	33	17,5	6,3	3,94-10,2	< 0,001
Ausente	12.324	34	2,75			
Peso ≤ 2.500 g						
Presente	2.158	45	20,8	11,4	6,87-18,9	< 0,001
Ausente	12.049	22	1,82			
Peso ≤ 1.500 g						
Presente	360	17	47,2	13,08	7,6-22,4	< 0,001
Ausente	13.847	50	3,61			
Edad gestacional < 37 semanas						
Presente	1.711	40	23,4	10,82	6,66-17,58	< 0,001
Ausente	12.496	27	2,16			
Edad gestacional ≤ 32 semanas						
Presente	295	11	37,2	9,26	4,9-17,5	< 0,001
Ausente	13.912	56	4,0			



Tabla 3. Análisis multivariado (regresión logística) de factores asociados a sepsis neonatal temprana

	Exp (B) OR	IC al 95% para OR	
		Inferior	Superior
Madre $\leq$ 15 años	3,50	1,56	7,85
Ruptura de membranas $>$ 18 h	2,65	1,18	5,92
Fiebre materna	6,04	1,54	23,6
Peso $\leq$ 2.500 g	4,82	2,38	9,75
Edad gestacional $<$ 37 semanas	3,14	1,58	6,22

OR: odds ratio; IC: intervalos de confianza.

Las variables que presentaron valor de $p < 0,2$ se incluyeron en análisis multivariado con regresión logística. Para obtener el modelo final se introdujo el total de las variables que cumplían el criterio y se excluyeron, paso a paso, en función de su significancia estadística o la influencia que tenían para otras variables dentro del modelo. Los factores de riesgo identificados mediante análisis multivariado se enlistan en la Tabla 3.

La letalidad de SNT fue de 9% (n: 6). Se aisló bacilos gramnegativos en cinco de las defunciones; no se observó diferencia en la letalidad de las infecciones causadas por bacterias grampositivas (5,3%) o gramnegativas (12,5%), (p 0,38). En pacientes con SNT, el peso $\leq$ 1.500 g (OR 3,9; IC 95% 1-15,8) y la edad gestacional $\leq$ 32 semanas (OR 3,8; IC 95% 1-14,7) se asociaron a mayor probabilidad de muerte.

Discusión

En este estudio, la incidencia de SNT (4,7 eventos por 1.000 RN) fue similar a la reportada por otras investigaciones en México²³; sin embargo, Leal y cols., cuantificaron en el sureste del país una incidencia de SNT de 32,8 eventos por 1.000 RN vivos. Es posible que la diferencia se debió al uso de distintos criterios en la definición de caso²⁴.

En países desarrollados, la causa más frecuente de SNT es *S. agalactiae*², mientras que en países en vías de desarrollo son enterobacterias²⁵⁻²⁷. En esta investigación, 63,2% de los eventos de SNT fueron causados por enterobacterias. *Escherichia coli* y *K. pneumoniae* fueron las bacterias aisladas con mayor frecuencia (n: 31), *S. agalactiae* representó 2,9% (n: 2) de las bacterias identificadas.

En el HCGJIM no existe un programa para la detección y tratamiento de colonización materna por *S. agalactiae*; sin embargo, la incidencia de SNT causada por esta bacteria fue de 0,14 eventos por cada 1.000 RN, frecuencia menor a la reportada en E.U.A. (0,34 eventos por cada

1.000 RN), donde se realizan estrategias diagnósticas y profilaxis antimicrobiana^{28,29}.

En México, la prevalencia de colonización por *S. agalactiae* en mujeres embarazadas es de 8,6% (IC 95% 6,8-10,5)³⁰, mientras que en E.U.A. es de 24,2%²⁸; estos indicadores posiblemente influyen sobre las diferencias en la etiología de SNT, pero es conveniente indagar la contribución de otros factores como el uso de antimicrobianos prenatales aun sin pruebas microbiológicas positivas y sus consecuencias sobre los resultados en las pruebas maternas y de los RN.

Las tendencias epidemiológicas actuales han mostrado un decremento en la frecuencia de SNT causada por *S. agalactiae* y se ha relacionado con la aplicación de programas de detección y tratamiento intraparto²⁹. Contrariamente a la información publicada, Vincent Bekker y cols., observaron que en un periodo de 25 años, la implementación de medidas preventivas y terapéuticas para infección o colonización materna por *S. agalactiae* se asoció a un incremento en la incidencia de SNT causada por este microorganismo (0,11 a 0,19 eventos por 1.000 RN vivos)³¹; estos resultados resaltan la necesidad de estudios de costo-efectividad previos a la aplicación universal de programas preventivos, principalmente en regiones de baja incidencia.

Las condiciones que determinan la etiología de las infecciones del RN están relacionadas con la inmadurez inmunológica⁶, los factores de riesgo maternos^{2,8-10} y los factores ambientales como el uso de profilaxis antimicrobiana o pruebas de tamizaje para la identificación temprana de enfermedades infecciosas durante el embarazo^{2,4}. En países en vías de desarrollo, es probable que el poco o nulo acceso a las intervenciones preventivas favorezca un panorama epidemiológico diferente^{25,32,33}, lo cual resalta la importancia de conocer información procedente de países no desarrollados.

Chin-Han Tsai y cols., observaron que los eventos de SNT por *E. coli* son más comunes en pacientes prematuros y con bajo peso al nacimiento; la fiebre materna durante el parto ($p < 0,035$) y la ruptura de membranas $>$ 24 h ($p < 0,015$) se identificaron como factores de riesgo³⁴. En el presente estudio, la edad gestacional $<$ 37 semanas, el peso al nacimiento $\leq$ 2.500 g, la ruptura de membranas $>$ 18 h y la fiebre materna durante el parto se asociaron a mayor riesgo de SNT. Un factor de riesgo diferente identificado en los pacientes del HCGJIM fue la edad materna $\leq$ 15 años.

Es probable que la edad materna $\leq$ 15 años esté relacionada con diferentes patrones de colonización bacteriana del tracto genitourinario. En condiciones normales, la microbiota vaginal está compuesta predominantemente por *Lactobacillus* spp. Esta colonización es un mecanismo de protección contra procesos infecciosos por la reducción del pH vaginal y la producción de sustancias antimicrobia-



nas como peróxido de hidrógeno. La edad de las mujeres, las modificaciones hormonales y el uso de medicamentos pueden alterar el ecosistema vaginal y causar colonización por bacterias diferentes como *E. coli*, *Enterococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Gardnerella* sp y *Mycoplasma* sp.^{35,36}. Una alta prevalencia de colonización por *S. agalactiae* se ha observado en pacientes diabéticas, en mujeres que usan tampones y en adolescentes^{37,38}.

En este reporte, 3,1% (n: 442) de los RN fueron hijos de mujeres de 15 o menos años de vida, con un riesgo de SNT 2,5 veces mayor al resto de los pacientes. Esta información resalta la necesidad de implementar medidas preventivas del embarazo en mujeres adolescentes debido al mayor riesgo de infecciones neonatales.

Puopolo y cols., diseñaron un modelo predictor de SNT basado en condiciones que pueden identificarse previo al nacimiento; algunos de estos factores predictores fueron la presencia de fiebre materna durante el parto (OR 2,38; IC 95% 2,05-2,77), la edad gestacional (OR 1,09; IC 95% 1,05-1,13) y el tiempo de ruptura prematura de membranas (OR 3,41; IC 95% 2,23-5,20)¹⁰.

Klinger y cols., de la unidad de cuidados intensivos neonatales del *Children's Medical Center* de Israel, reportaron una incidencia de SNT de 24,2 eventos por 1.000 RN en pacientes con muy bajo peso al nacimiento. El 55% de los patógenos aislados fueron bacilos gramnegativos y los factores asociados a la infección fueron la ausencia de control prenatal, ruptura de membranas > 24 h y la presencia de amnionitis³⁹. En el HCGJIM, 2,5% de los RN presentaron peso al nacimiento ≤ 1.500 g y la incidencia de SNT para este grupo de pacientes fue de 47,2 eventos por cada 1.000 RN, frecuencia significativamente mayor a la del total de la población (RR 13,08; IC 95% 7,6-22,4).

Una limitante de este estudio es el haberse realizado con una muestra hospitalaria que puede ser diferente a la población de la cual procede; sin embargo, debido a que el HCGJIM atiende a población abierta y heterogénea las diferencias pueden ser menores.

Aunque el hemocultivo es la prueba de referencia para el diagnóstico de SNT, pueden presentarse resulta-

dos falsos positivos y falsos negativos que dificultan la comparación de los resultados entre diferentes estudios⁴⁰.

Conclusiones

La incidencia de SNT y agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia fueron similares a lo reportado en estudios realizados en países en vías de desarrollo. Mediante análisis multivariado se identificó que la edad materna ≤ 15 años, la ruptura de membranas > 18 h, la presencia de fiebre en la madre durante el parto, la edad gestacional < 37 semanas y el peso al nacimiento ≤ 2.500 g incrementan significativamente el riesgo de SNT.

Resumen

Introducción: La sepsis neonatal temprana (SNT) es la segunda causa de muerte en la primer semana de vida; la epidemiología difiere en países desarrollados y en vías de desarrollo. **Objetivo:** Describir la epidemiología de SNT en recién nacidos (RN) de un hospital público del occidente de México. **Material y Métodos:** Estudio de cohorte prospectivo en RN del Nuevo Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I Menchaca". Se diagnosticó SNT con cultivos de sangre o líquido cefalorraquídeo en las primeras 72 h de vida. Se indagaron factores de riesgo (FR) mediante análisis multivariado con regresión logística. **Resultados:** La incidencia de SNT fue de 4,7 eventos por 1.000 RN vivos. El 72% de las bacterias aisladas correspondió a bacilos gramnegativos. Los factores asociados a SNT fueron la edad materna ≤ 15 años (OR 3,50; IC 95% 1,56-7,85), ruptura de membranas > 18 h (OR 2,65; IC 95% 1,18-5,92), fiebre materna (OR 6,04; IC 95% 1,54-23,6), peso al nacimiento ≤ 2.500 g (OR 4,82; IC 95% 2,38-9,75) y edad gestacional < 37 semanas (OR 3,14; IC 95% 1,58-6,22). **Conclusiones:** Además de los FR ya conocidos para SNT se observó asociación independiente con edad materna ≤ 15 años.

Referencias bibliográficas

- 1.- Ganatra H A, Stoll B J, Zaidi A K M. International perspective on early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010; 37 (2): 501.
- 2.- Puopolo K M. Epidemiology of neonatal early-onset sepsis. *Neoreviews* 2008; 9 (12): e571-e9.
- 3.- Lawn J E, Cousens S, Zupan J. Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? where? why? *Lancet* 2005; 365 (9462): 891-900.
- 4.- Phares C R, Lynfield R, Farley M M, Mohle-Boetani J, Harrison L H, Petit S. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA* 2008; 299 (17): 2056-65.
- 5.- Lozano-Ascencio R, Santos-Preciado J I. Mortalidad en menores de cinco años mexicanos en 2004: hacia los objetivos del milenio. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2005; 62: 406-20.
- 6.- Lewis D B, Wilson C B. Developmental immunology and role of host defenses in fetal and neonatal susceptibility to infection. In: Remington JS, Klein JO, eds. *Infectious Disease of Fetus, Newborn, and Infants*. 7th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2011 pp: 80-172.
- 7.- Schrag S J, Hadler J L, Arnold K E, Martell-Cleary P, Reingold A, Schuchat A. Risk factors for invasive, early-onset *Escherichia coli* infections in the era of widespread intrapartum antibiotic use. *Pediatrics* 2006; 118 (2): 570-6.
- 8.- Oddie S, Embleton N D. Risk factors for early onset neonatal group B streptococcal sepsis: case-control study. *Br Med J* 2002; 325 (7359): 308.
- 9.- Bersani I, Thomas W, Speer C P.



- Chorioamnionitis-the good or the evil for neonatal outcome? J Matern Fetal Neonatal Med 2012; 25 (S1): 12-6.
10. Puopolo K M, Draper D, Wi S, Newman T B, Zupancic J, Lieberman E, et al. Estimating the probability of neonatal early-onset infection on the basis of maternal risk factors. Pediatrics 2011; 128 (5): e1155-e1163.
 11. Mukhopadhyay S, Puopolo K M. Risk assessment in neonatal early onset sepsis. Semin Perinatol 2012; 36 (6): 408-15.
 12. Saltigeral-Simental P, Valenzuela-Flores A, Avendaño-Barroeta E. Agentes causales de sepsis neonatal temprana y tardía: una revisión de diez años en el "Hospital Infantil Privado". Rev Enf Infec Pediatr 2007; 20 (80): 99-105.
 13. Pammi M, Flores A, Leeftang M, Versalovic J. Molecular assays in the diagnosis of neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. Pediatrics 2011; 128 (4): e973-e985.
 14. Polin R. Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. Pediatrics 2012; 129: 1006-15.
 15. Buttery J. Blood cultures in newborns and children: optimizing an everyday test. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2002; 87 (1): F25-F28.
 16. Benitz W E. Adjunct laboratory tests in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. Clin Perinatol 2010; 37 (2): 421-38.
 17. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med 2005; 6 (1): 2-8.
 18. Hofer N, Müller W, Resch B. Neonates presenting with temperature symptoms: Role in the diagnosis of early onset sepsis. Pediatr Int 2012; 54 (4): 486-90.
 19. Simini F. Clinical signs that predict severe illness in children under age 2 months: a multicentre study. Commentary. Lancet 2008; 371 (9607).
 20. Consejo de Salubridad General. Prevención, diagnóstico y tratamiento de sepsis y choque séptico del recién nacido en el segundo y tercer nivel de atención. México: Secretaría de Salud; noviembre 2012. (Documento en línea) Referido en enero de 2013; (107 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.cenotec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/283_GPC_SepsisNeonatal/SS-283-12_RER_SEPSIS_Y_CHOQUE_SxPTICO_RN.pdf.
 21. Hall K K, Lyman J A. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev 2006; 19 (4): 788-802.
 22. Beekmann S E, Diekema D J, Doern G V. Determining the clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. Infect Control Hosp Epidemiol 2005; 26 (6): 559-66.
 23. Rodríguez-Weber M A, López-Candiani C, Arredondo-García J L. Morbilidad y mortalidad por sepsis neonatal en un hospital de tercer nivel de atención. Salud Pública Mex 2003; 45 (2): 90-5.
 24. Leal Y, Alvarez-Nemegyei J. Risk factors and prognosis for neonatal sepsis in southeastern Mexico: analysis of a four-year historic cohort follow-up. BMC Pregnancy Childbirth 2012; 12 (1): 48.
 25. Zakariya B P, Bhat V, Harish B N, Babu T A, Joseph N M. Neonatal sepsis in a tertiary care hospital in South India: bacteriological profile and antibiotic sensitivity pattern. Indian J Pediatr 2011; 78 (4): 413-7.
 26. Shrestha S, Shrestha N, Dongol Singh S, Shrestha N C, Shrestha R P, Madhup S K. Bacterial isolates and its antibiotic susceptibility pattern in NICU. Kathmandu Univ Med J 2013; 41 (1): 66-70.
 27. Viswanathan R, Singh A K, Mukherjee S, Mukherjee R, Das P, Basu S. Aetiology and antimicrobial resistance of neonatal sepsis at a tertiary care centre in eastern India: a 3 year study. Indian J Pediatr 2011; 78 (4): 409-12.
 28. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B *Streptococcal* Disease Revised Guidelines from CDC, 2010. MMWR 2010; 59 (Nº RR-10): 2-11.
 29. Simonsen K A, Anderson-Berry A L, Delair S F, Davies H D. Early-onset neonatal sepsis. Clin Microbiol Rev 2014; 27 (1): 21-47.
 30. Ocampo-Torres M, Sánchez-Pérez H J, Nazar-Beutelspacher A, Castro-Ramírez A E, Cordero-Ocampo B. Factores asociados a la colonización por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas. Salud Pública Mex 2000; 42: 413-21.
 31. Bekker Vincent, Bijlsma M W, Beek D, Kuijpers T W, Ende A. Incidence of invasive group B streptococcal disease and pathogen genotype distribution in newborn babies in the Netherlands over 25 years: a nationwide surveillance study. Lancet Infect Dis 2014; 14: 1083-89.
 32. Li Z, Xiao Z, Li Z, Zhong Q, Zhang Y, Xu F. 116 cases of neonatal early-onset or late-onset sepsis: A single center retrospective analysis on pathogenic bacteria species distribution and antimicrobial susceptibility. Int J Clin Exp Med 2013; 6 (8): 693-9.
 33. Marchant E A, Boyce G K, Sadarangani M, Lavoie P M. Neonatal sepsis due to coagulase-negative staphylococci. Clin Dev Immunol 2013; 1-10.
 34. Tsai C H, Chen Y Y. Characteristics of early-onset neonatal sepsis caused by *Escherichia coli*. Taiwan J Obstet Gynecol 2012; 51 (1): 26-30.
 35. Darmstadt G L, Zaidi A K, Stoll B J. Neonatal infections: a global perspective. In: Remington JS, Klein JO, eds. Infectious Disease of Fetus, Newborn, and Infants. 7th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2011: 24-51.
 36. Nardis C, Mosca L. Vaginal microbiota and viral sexually transmitted diseases. Ann Ig 2013; 25 (5): 443-56.
 37. Nandyal R R. Update on group B streptococcal infections: perinatal and neonatal periods. J Perinat Neonatal Nurs 2008; 22 (3): 230-7.
 38. Persson K. Several factors influencing the colonization of group B streptococci: rectum probably the main reservoir. Scand J Infect Dis 1980; 13 (3): 171-5.
 39. Klinger G, Levy I. Epidemiology and risk factors for early onset sepsis among very-low-birthweight infants. Am J Obstet Gynecol 2009; 201 (1): 38.e1-6.
 40. Wynn J L, Wong H R, Shanley T P, Bizzarro M J, Saiman L, Polin RA. Time for a neonatal-specific consensus definition for sepsis. Pediatr Crit Care Med 2014; 15: 523-8.