

Factor estimulante de colonias granulocíticas en prevención de sepsis nosocomial del prematuro: estudio doble ciego randomizado, controlado

Antonio Salvadó G.¹, Pamela Ramolfo B.¹, Marisol Escobar M.¹,
Jimena Núñez C.¹, Inés Aguayo T.¹, Lina Sánchez G.¹,
Jane Standen H.¹, Marianela García S.¹, Irene Rojas E.²

Resumen

El recién nacido presenta con frecuencia infecciones bacterianas severas que pueden o no acompañarse de neutropenia, las que se ven favorecidas por una insuficiencia cualitativa y cuantitativa del sistema fagocítico neutrófilo en esta etapa de la vida. Lo anterior se acentúa aún más en el prematuro, lo que contribuye a altas tasas de morbilidad por infección. Publicaciones recientes sugieren la utilidad del factor estimulante de colonias granulocíticas (rH-GCSF). El objetivo de nuestro estudio fue la evaluación prospectiva del uso precoz de rH-GCSF en prevención de sepsis nosocomial. **Pacientes y Métodos:** Se estudiaron 68 recién nacidos pretérmino de menos de 32 semanas de edad gestacional y peso inferior a 1 500 g, libres de infección clínica. 34 de ellos fueron asignados a tratamiento diario por un período de 15 días con rH-GCSF desde antes de las 72 horas de vida; la asignación se realizó en forma ciega y randomizada por tablas de números al azar. **Resultados:** la morbilidad infecciosa tanto sospechada como confirmada no mostró diferencias entre ambos grupos, a pesar de lograr una neutrofilia significativa. **Conclusión:** En este estudio, rH-GCSF no demostró ser útil en la prevención de sepsis de origen intrahospitalario.

(**Palabras clave:** infección nosocomial, rH-GCSF, prematuros.)

The use of recombinant GCSF in the prevention of hospital acquired sepsis in premature babies-a randomized double blind controlled trial

Neonates often develop severe bacterial infections, at this age there is a failure in the quantity and quality of the phagocytic system, often associated with a neutropenia. This is usually more severe in the premature contributing to the higher mortality seen in this group. Recent publications favour the use of GCSF for the prevention of nosocomial infections. This was a prospective study to evaluate the early use of GCSF in the prevention of hospital acquired infection in preterm neonates. 34 preterms were randomized to treatment with GCSF and 34 to the placebo group. In this double blind trial there was no reduction in infections in this group of patients inspite of achieving a significant neutrophilia. **Conclusions:** In this trial GCSF was not useful in the prevention of nosocomial infections in premature neonates.

(**Key words:** nosocomial infection, rh-GCSF, premature neonate.)

1. Médico, Hospital Dr. Gustavo Fricke, Servicio de Neonatología, Viña del Mar.

2. Químico-Farmacéutico. Hospital Dr. Gustavo Fricke, Servicio de Neonatología, Viña del Mar.

INTRODUCCIÓN

La sepsis neonatal causa un 25% de las muertes en unidades de cuidados intensivos neonatales y es responsable del 35% de las muertes de los recién nacidos de menos de 1 500 g al nacer.

Los recién nacidos, especialmente los prematuros, presentan un alto riesgo de infección, asociado a una falla cuantitativa y cualitativa del sistema fagocítico neutrófilo y al déficit de inmunoglobulinas en esta etapa de la vida¹⁻³. Por esto, se han intentado diversas terapias dirigidas a enfrentar el problema de infecciones, entre otras, el uso profiláctico de antibióticos, la infusión de gammaglobulina intravenosa, la exanguinotransfusión, la hemofiltración, transfusión de granulocitos^{4, 5} y, en el último tiempo, el ensayo de citoquinas estimulantes de la serie neutrófila⁶⁻⁹.

El factor estimulante de colonias granulocíticas (rH-GCSF) es una glicoproteína de PM de 18 a 22 kd, conformada por 174 aminoácidos y codificada por un gen de 2,5 kilobases ubicado en el brazo largo del cromosoma 17. Constituye un regulador fisiológico de la función y producción de granulocitos, es sintetizada por células endoteliales, linfocitos, macrófagos, mastocitos y algunos tipos de fibroblastos. Es capaz de estimular progenitores de neutrófilos, incrementar la capacidad fagocítica, mejorar la quimiotaxis y la producción de peróxidos de estos.

Se sabe que la producción basal de rH-GCSF es baja en recién nacidos prematuros, comparada con los niveles del adulto y que la administración de rH-GCSF puede revertir la neutropenia en el recién nacido⁷⁻⁹.

Basados en la experiencia favorable de Gillan, Cairo y Rusell^{10, 11}, nuestro objetivo básico fue intentar demostrar la utilidad potencial de esta citoquina en mejorar el perfil de la serie granulocítica y disminuir la tasa de infección nosocomial en prematuros menores de 1 500 g usada en forma precoz. Este protocolo constituye una extensión de una publicación preliminar realizada por nuestro servicio¹¹ en que habíamos demostrado su seguridad y también una importante respuesta de la serie granulocítica en prematuros con sospecha de sepsis, tal como ya se había publicado en la literatura^{12, 21}.

Los estudios preliminares en ratas sugieren su utilidad en la profilaxis de infección nosocomial¹³ y los estudios de campo realizados en neonatos humanos con sospecha de sepsis han reportado resultados variables en la sobrevida y en la reducción de las tasas de infección intrahospitalaria¹⁴⁻¹⁶.

Nuestra hipótesis de trabajo fue que la administración profiláctica de rH-GCSF a prematuros menores de 1 500 g (y < 32 semanas de edad gestacional), libres de infección, antes de las 72 horas de vida y durante un período de 15 días sucesivos, pudiera lograr una disminución de la morbilidad infecciosa nosocomial basados en los cambios cuali y cuantitativos que induce esta citoquina en los neutrófilos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Criterios de inclusión: ingresaron al protocolo 68 recién nacidos pretérmino de menos de 32 semanas y peso inferior a 1 500 g, libres de infección clínica y sin antecedentes en su historia que hicieran sospechar infección connatal, entre junio de 1998 y marzo de 2000 (tabla 1). Fueron excluidos 9 pacientes, 8 por mortalidad precoz, derivada de su prematuridad (hemorragia intracraneal grado II o superior, hemorragia pulmonar, asfixia, todas ocurridas antes de las 72 h de iniciado el protocolo), y uno por alcanzar leucocitosis mayor de 50 000 x mm³.

Administración de rH-GCSF: Se administró, antes de las 72 horas de vida, rH-GCSF (Neupogen^{MR}, Laboratorios Roche) a 34 niños, a dosis de 3 microgramos/kg/día, por vía subcutánea, o agua bidestilada a 34 neonatos de iguales características (tabla 1), durante un período de 15 días. Los investigadores y el personal de enfermería desconocían el contenido de los viales.

Randomización: Fue realizada en servicio de farmacia del establecimiento en base a tablas de números al azar. Se solicitó consentimiento informado a los padres, y el protocolo fue aprobado por Comité de Ética del hospital.

Evaluación de laboratorio: Se practicó hemograma previo al inicio del estudio, excluyéndose a aquellos niños que presentaban recuentos de leucocitos mayores de

Tabla 1
Características de los grupos de estudio

	Grupo rH-GCSF (n=34)	Grupo placebo (n=34)	Valor "p"
Sexo (M/F)	18/16	10/24	0,085 ns
Peso (gramos)	1 116 (244,98)	1 202 (217,11)	0,132 ns
Edad gestacional (semanas)	29,41 (2,15)	30,02 (2,096)	0,24 ns
Esteroides antenatales	16/18	17/17	ns
Ruptura ovular prematura	9/25 (26,5 %)	9/25 (26,5 %)	0,783 ns
Tipo parto (cesárea/vaginal)	26/8 (76,5 %)	21/13 (61,7%)	0,294 ns
Ventilación mecánica por SDR	19/34 (55,8%)	17/34 (50%)	0,80 ns

40 000 x mm³. Los recuentos de leucocitos fueron realizados electrónicamente con un contador Coulter (Coulter Electronics, Inc, Hialeah, FL). Se realizaron hemogramas antes de la tercera dosis, al día 4, 8, 15 y también 7 días luego de terminada la terapia. Se registraron cuidadosamente las infecciones y se eliminó del estudio a los neonatos que presentaron granulocitosis superior a 50 000 x mm³.

Se consideraron sospechosos de infección a aquellos niños que presentaron signos clínicos compatibles, tales como inestabilidad térmica, apneas/bradicardia o taquicardia, dificultad respiratoria con alteraciones radiográficas, neutropenia según criterios de Manroe¹⁷, distensión abdominal sugerente de enterocolitis necrotizante, residuos gástricos elevados, hipotensión inexplicada, etc., y en los cuales se tomaron cultivos y se inició terapia antibiótica. Se consideraron con infección nosocomial a aquellos casos en los cuales a lo anterior se sumaron cultivos positivos (orina, sangre, líquido cefalorraquídeo).

Se aplicó *score* de gravedad Crib¹⁸ a ambos grupos para hacerlos comparables.

El tamaño muestral se logró utilizando programa Primer Of Statistics, estimando una reducción del riesgo de infección intrahospitalaria desde alrededor de 50% (antecedentes históricos de nuestro servicio) hasta 15% (valores promedios de otros servicios y otros autores¹⁹, estableciéndose que un número de 32 niños por grupo podría permitir 80% de poder, con un nivel de significancia de 5% (error α).

Los datos fueron analizados por t de Student y por chi-cuadrado.

RESULTADOS

Las características de los pacientes incluidos en el protocolo se muestran en la tabla 1. La distribución por peso, edad gestacional, sexo, uso de corticoides antenatales, antecedente de ruptura prematura de membranas y tipo de parto fueron similares. Los días de ventilación mecánica tampoco fueron diferentes.

Las curvas de neutrófilos se muestran en la figura 1, destacando la neutrofilia alcanzada por el grupo que recibió la droga, ya evidenciable luego de 3 dosis con un incremento de 85% por sobre los valores basales ($p=0,01$), y de 190% al 8º día ($p<0,01$), las que revirtieron a los 7 días de suprimida la droga.

La morbilidad infecciosa, tanto sospechada como confirmada fueron equivalentes (tabla 2) en ambos grupos (grupo rH-GCSF 29,4% de infección con cultivos positivos, versus 30,3% del grupo placebo, $p=0,85$).

La mortalidad tampoco fue diferente en ambos grupos. De los 3 neonatos fallecidos en el grupo control, 2 fueron atribuibles a infección, y los 3 del grupo tratado fueron secundarias a septicemia.

DISCUSIÓN

Los grupos de estudio fueron comparables, y nuestros resultados concuerdan con los publicados en la literatura internacional. Schibler et al¹⁶ administraron rH-GCSF a recién nacidos con signos de sepsis neonatal precoz y neutropenia, no observando reduc-

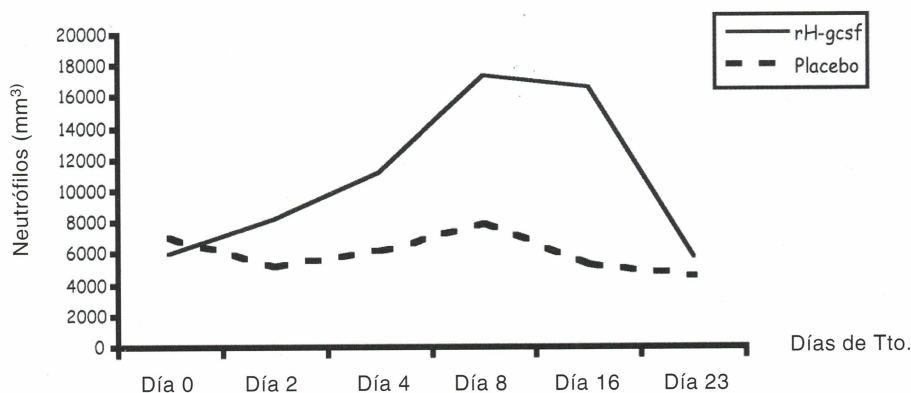


Figura 1: Evolución de neutrófilos durante protocolo.

Tabla 2

Resultados grupo rH-GCSF vs. placebo

	Grupo rH-GCSF (n=34)	Grupo placebo (n=34)	Valor "p"
Sospecha de infección	21/31 (61,8%)	15/34 (44,1 %)	0,224 ns
Infección confirmada	10/34 (29,4 %)	10/34 (30,3 %)	0,85 ns
Mortalidad	3/31 (8,8%)	3/31 (8,8 %)	1 ns
Crib < 5 puntos	19/30	23/30	0,673 ns

Crib: score de gravedad (Ref. 18)

ción en la severidad de la sepsis, morbilidad ni mortalidad, en coincidencia con los datos publicados por otros autores^{12, 14, 19}. Cairo et al, en un gran estudio randomizado, controlado²¹, utilizó rH-GMCSF en profilaxis de infección nosocomial y tampoco observó reducción de la tasa de infección ni reducción de la mortalidad.

Las tasas de infección nosocomial fueron iguales en ambos grupos, lo que concuerda con lo publicado por Miura et al y por otros autores^{19, 21}. No observamos la eosinofilia descrita en otros trabajos, posiblemente debido a que nuestro protocolo utilizó dosis menores.

En nuestro estudio registramos 16 casos de neutropenia, 9 en el grupo tratado y 7 en el grupo placebo, con tasas de infección similares. Sin embargo, algunos grupos han planteado que estos niños serían los que realmente se beneficiarían con el tratamiento, ya que este grupo de prematuros es especialmente vulnerable a infección.

Kocherlakota et al²² trataron un pequeño grupo de neonatos prematuros con neutropenia inducida por preeclampsia, con reducción aparente del número de sepsis nosocomial. También lo han sugerido dos pequeñas series publicadas recientemente^{23,24}, y se requerirá, en todo caso, la realización de estudios randomizados y controlados con una casuística mayor para verificar esta hipótesis. En suma, este estudio no demostró beneficio en la morbilidad con el uso profiláctico de rH-GCSF en prematuros de menos de 1 500 g de peso, a pesar de haber inducido neutrofilia importante.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. QF. Angela Cabello M., por la preparación de droga y placebos en el Servicio de Farmacia, y a nuestras matronas del Servicio de Neonatología por su inestimable colaboración durante el estudio. Además,

agradecemos el apoyo de Laboratorios Roche por el suministro de la droga (rH-GCSF, Neupogen^{MR}).

REFERENCIAS

1. *Cairo M*: Host defense and new treatment strategies in neonatal sepsis. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 213-4.
2. *Lewis DB, Wilson CB*: Developmental immunology and role of host defenses in neonatal susceptibility. In: Remington JS, Klein JO, (eds). *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 4th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1995: 17-67.
3. *Hill HR*: Biochemical, structural and functional abnormalities in polymorphonuclear leukocytes in the neonate. *Pediatr Res* 1989; 22: 375-82.
4. *Baley JE, Stork EK, Warkentin PI, et al*: Buffy coat transfusions in neutropenic neonates with presumed sepsis: a prospective, randomised trial. *Pediatrics* 1987; 80: 712-20.
5. *Cairo MS, Rucke R, Benetts GA*: Improved survival of newborns receiving leukocyte transfusions for sepsis. *Pediatrics* 1984; 887-92.
6. *Perez E, Weisman L*: Novel approaches to the prevention and therapy of neonatal bacterial sepsis. *Clinics in Perinatol* 1997; 24: 213-29.
7. *Rusell A*: Treatment of neonatal neutropenia with rH-GCSF. *Pediatr Res* 1994; 36: 6A.
8. *Schibler KR, Leichty KW, White W, Christensen RD*: Production of granulocyte colony-stimulating factor in vitro by monocytes from preterm and term neonates. *Blood* 1993; 82: 2478-84.
9. *Cairo M, Suen Y, Knoppel E, et al*: Decreased G-CSF and IL-3 production and gene expression from mononuclear cells of newborn infants. *Pediatr Res* 1992; 31: 574-8.
10. *Rusell A, Davies E, et al*: Granulocyte colony stimulating factor treatment for neonatal neutropenia. *Arch Dis Child* 1995; F53-F54.
11. *Salvadó A, Standen J, Escobar M*: Cinética de neutrófilos después de rH-GCSF en prematuros con sospecha de sepsis. Congreso Chileno de Pediatría, Concepción, 1995. *Rev Chil Pediatr Supl* 66-6.
12. *Cairo MS*: Results of a phase I/II trial of recombinant human granulocyte-macrophage colony in very low birthweight neonates. *Blood* 1995; 86: 2509-1.
13. *Cairo MS, Plunkett J, Mauss D, et al*: Seven day administration of recombinant granulocyte colony-stimulating factor to newborn rats: modulation of neonatal neutrophilia, myelopoiesis, and group B streptococcal sepsis. *Blood* 1990; 76: 1788-94.
14. *Kocherlakota P, La Gamma EF*: Human granulocyte colony-stimulating factor may improve outcome attributable to neonatal sepsis complicated by neutropenia. *Pediatrics* 1997; 100(1).URL: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/100/1/e6>.
15. *Barak Y, Leibowitz E, Mogliner B, et al*: The in vivo effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in neutropenic neonates with sepsis. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 643-6.
16. *Schibler KR, Osborne KA, Leung LY, et al*: A randomised, placebo-controlled trial of granulocyte colony-stimulating factor administration to newborn infants with neutropenia and clinical signs of early-onset sepsis. *Pediatrics* 1998; 102: 6-13.
17. *Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Brown BR*: The neonatal Blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophil cells. *J Pediatr* 1979; 95: 89-98.
18. The International Neonatal Network. The Crib (clinical risk index) score: a tool for assessing initial neonatal risk and comparing performance of neonatal intensive care units. *Lancet* 1993; 342: 193-8.
19. *Miura E, Procianny R, Bittar C, et al*: A randomised, double-masked, placebo-controlled trial of recombinant granulocyte colony-stimulating factor administration to preterm infants with clinical diagnosis of early-onset sepsis. *Pediatrics* 2001; 107: 30-5.
20. *Rosenthal J, Healey T, Ellis R, Gillan E, Cairo MS*: A two-year follow-up of neonates with presumed sepsis treated with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor during the first week of life. *J Pediatr* 1996; 128: 135-7.
21. *Cairo MS, Agosti J, Ellis R, et al*: A randomised, double blind, placebo-controlled trial of prophylactic recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to reduce nosocomial infections in very low birthweight neonates. *J Pediatr* 1999; 134: 64-70.
22. *Kocherlakota P, La Gamma E*: Preliminary report: rHG-CSF may reduce the incidence of neonatal sepsis in prolonged preclampsia-associated neutropenia. *Pediatrics* 1998; 102: 1107-11.
23. *Makhlouf RA, Doron MW, Bose CL, Stiles AD*: Administration of granulocyte colony-stimulating factor to neutropenic low birthweight infants of mothers with preeclampsia. *J Pediatr* 1995; 126: 454-6.
24. *La Gamma EF, Alpan O, Kocherlakota P*: Effects of granulocyte colony-stimulating factor on preeclampsia-associated neonatal neutropenia. *J Pediatr* 1995; 126: 357-9.