



Caracterización de la respuesta inflamatoria en la neumonía comunitaria grave. Efecto de los corticoides en la contención de dicha respuesta y en el curso evolutivo de la infección

Silvia Fernández Serrano

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSITAT DE BARCELONA

DIVISIÓ DE CIÈNCIES DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA

**CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN LA
NEUMONÍA COMUNITARIA GRAVE. EFECTO DE LOS CORTICOIDES EN LA
CONTENCIÓN DE DICHA RESPUESTA Y EN EL CURSO EVOLUTIVO DE LA
INFECCIÓN**

Memoria presentada por Silvia Fernández Serrano

Director: Dr. Jordi Dorca Sargatal.

A Carlos y a Irene por dar sentido a mi vida.

A mis padres, por su apoyo incondicional, sin ellos no habría sido posible llegar hasta aquí.

AGRADECIMIENTOS

Al *Dr Jordi Dorca*, director de esta tesis, mi maestro y amigo, por enseñarme a ser médico, por iniciarme en la investigación científica, por su ánimo, dedicación y ayuda inestimables.

Al *Dr Manresa*, por brindarme su apoyo a lo largo de la realización de la tesis.

A *Ana Fernández-Agüera*, por su dedicación al trabajo y a los pacientes.

A mis *compañeros del Servicio de Neumología del Hospital de Bellvitge*, médicos y enfermeras, por su ayuda en la atención y seguimiento de los pacientes, en especial a la *Dra Padrones*.

Al *equipo del Servicio de Infecciosas del Hospital de Bellvitge*, por su ayuda en la elaboración de este trabajo, especialmente al *Dr Gudiol, al Dr Carratalà, a la Dra. Fernández-Sabé y a la Dra Garcia-Vidal*.

Al *equipo de Urgencias del Hospital de Bellvitge*, por su colaboración en la selección de los pacientes, en especial al *Dr Palom*.

A la *Dra Coromines* por su colaboración y asesoramiento en el estudio inmunológico.

A mis *compañeros del Servicio de Neumología del Hospital Municipal de Badalona*, por apoyarme y alentarme en el siempre difícil tramo final del desarrollo de la tesis.

A mi *familia y amigos*.

Esta tesis doctoral ha sido financiada gracias a las siguientes becas:

Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica, 1997.

Fundació August Pi i Sunyer. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge, 1998.

“Fondo de Investigaciones Sanitarias. Ministerio de Sanidad y Consumo”

Beca nº expediente 99/0838

ISCIII RTIC 03/4 (Red Respira), 2000-2003.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Los resultados expuestos en esta tesis han sido publicados en revistas científicas y presentados en congresos:

Publicaciones en revistas indexadas

1. Fernández-Serrano S, Dorca J, Coromines M, Carratalà J, Gudiol F and Manresa F. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia. Clin Diagn Lab Immunol 2003;10:813–820. EPUB. PMID 12965910.
2. Padrones S, Garcia-Vidal C, Fernández-Serrano S, Fernández A, Masuet C, Carratalà J, Coromines M, Ardanuy C, Gudiol F, Manresa F, Dorca J: Impact of antibiotic therapy on systemic cytokine expression in pneumococcal pneumonia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010, 29:1243-1251. EPUB PMID:20567869.
3. Fernández-Serrano S, Dorca J, Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé, Carratalà J, Fernández-Agüera A, Corominas M, Padrones S, Gudiol F and Manresa F. Effect of corticosteroids on the clinical course of community-acquired pneumonia : a randomized controlled trial. Critical Care 2011, 15 :R96. EPUB. PMID:21406101.

Molecular Inflammatory Responses Measured in Blood of Patients with Severe Community-Acquired Pneumonia

Silvia Fernández-Serrano,¹ Jordi Dorca,^{1*} Mercè Coromines,² Jordi Carratalà,³
Francesc Gudiol,³ and Frederic Manresa¹

*Serveis de Pneumologia,¹ Immunologia,² and Malalties Infeccioses,³ Hospital Universitari de Bellvitge,
Departament de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain*

Received 2 January 2003/Returned for modification 11 March 2003/Accepted 15 May 2003

In order to analyze the characteristics of the inflammatory response occurring in blood during pneumonia, we studied 38 patients with severe community-acquired pneumonia. Venous and arterial blood samples were collected at study entry and on days 1, 2, 3, 5, and 7 after inclusion. The concentrations of proinflammatory (tumor necrosis factor alpha [TNF- α], interleukin 1 β [IL-1 β], IL-6, and IL-8) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines were determined in order to detect differences related to the origin of the sample, the causative organism, the clinical variables, and the final outcome of the episode. *Legionella* pneumonia infections showed higher concentrations of TNF- α , IL-6, IL-8, and IL-10. After 24 h, plasma IL-6, IL-8, and IL-10 concentrations in pneumococcal episodes increased, whereas in the same time interval, cytokine concentrations in *Legionella* episodes markedly decreased. The characteristics of the inflammatory response in bacteremic pneumococcal episodes were different from those in nonbacteremic episodes, as indicated by the higher plasma cytokine concentrations in the former group. Finally, our analysis of cytokine concentrations with regard to the outcome—in terms of the need for intensive care unit admittance and/or mechanical ventilation as well as mortality—suggests that there is a direct relationship between the intensity of the inflammatory response measured in blood and the severity of the episode.

Severe community-acquired pneumonia (SCAP) remains an important cause of mortality in spite of effective antibiotics (2, 3, 4). The lung inflammatory response during pneumonia is a complex process involving the coordinated expression of both pro- and anti-inflammatory cytokines. The adequate balance between both maintains the inflammatory response compartmentalized in the lungs and within the limits of homeostasis. If this balance is altered in favor of proinflammatory cytokines, the final response can involve the whole organ, leading to adult respiratory distress syndrome or even to the development in the entire organism of systemic inflammatory response syndrome. There is increasing evidence that an adequate cytokine balance plays a crucial role in determining the outcome of pneumonia. Even after successful eradication of causative organisms with appropriate antibiotic treatment, neither the transition from an inflamed lung to one with normal architecture nor the patient's survival is always ensured.

Better knowledge of the inflammatory host response may be of clinical importance in determining more efficacious therapy for SCAP. However, the relationship between the cytokine profile and the clinical outcome in pneumonia remains unclear, probably due to the complexity of the cytokine network and the different variables involved in clinical studies; the latter variables include (i) the timing of cytokine measurements in relation to the onset of infection, (ii) the effect of antibiotic therapy on cytokine production, and (iii) the compartmental-

ization of the inflammatory response within the lungs, which makes difficult the close monitoring of these phenomena.

The aim of our study was to assess the profile of the inflammatory response during the clinical course of SCAP by serial measurements. Several studies have evaluated inflammatory mediators in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid (6, 13, 17) mainly because at least initially, the inflammatory response in pneumonia is confined to the lungs and this approach would therefore provide more reliable information than an analysis of inflammatory mediators in blood. Nevertheless, bronchoscopic BAL is a difficult procedure in nonintubated patients with respiratory failure and is associated with clinically relevant complications (fever, worsening of hypoxemia, and sepsis-like manifestations). Furthermore, some authors have found a positive correlation between the levels in serum of specific cytokines, such as interleukin 6 (IL-6), and their BAL fluid concentrations (6). For all of these reasons, we have analyzed this phenomenon by determining cytokine concentrations in blood samples, as has been done elsewhere (14).

We carried out a prospective study of SCAP in order to (i) determine the sequential changes in the expression of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in blood during pneumonia and (ii) analyze the relationship between these cytokine profiles and the etiology, severity, and outcome of the infection.

MATERIALS AND METHODS

Setting and study design. This study was conducted at Bellvitge Hospital, a 1,000-bed university hospital in Barcelona, Spain, which serves an area of 1,100,000 inhabitants. A total of 38 consecutive patients with SCAP and with extensive radiographic consolidations (affecting at least two lobes) and respiratory failure (ratio of partial O₂ pressure to the fraction of inspired O₂, <300) were prospectively included. Pneumonia was diagnosed on the basis of a lung

* Corresponding author. Mailing address: Servei de Pneumologia, Hospital de Bellvitge, Feixa Llarga s/n, 08907 l'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. Phone: 34-93-260.76.85. Fax: 34-93-260.76.39. E-mail: jodorca@csub.scs.es.

radiographic opacity and at least two of the following conditions: fever ($>38.5^{\circ}\text{C}$), purulent expectoration, pleuritic chest pain, or leukocytosis (white blood cell count of $>10,000/\text{mm}^3$). This prospective observational study was approved by our Institutional Review Board.

Microbiological studies. For all patients, two sets of blood cultures were obtained. When available, sputum samples were processed for Gram staining and culturing. Investigation of pathogens in other specimens, such as normally sterile fluids, was also performed by conventional procedures. Isolation of *Legionella pneumophila* from sputum and other respiratory samples was attempted by using selective media (BCYE- α ; Oxoid, Basingstoke, England). For all patients, the detection of *L. pneumophila* serogroup I antigen in urine was performed by an enzyme-linked immunosorbent assay (Legionella Urinary Antigen; Binax, Portland, Maine). Paired serum samples from the acute and convalescent phases (separated by 4 to 8 weeks) were also obtained for serological studies. Standard serological methods were used to detect antibodies to the following pathogens: *Mycoplasma pneumoniae* (indirect agglutination), *Chlamydia psittaci* (immunofluorescence), *Chlamydia pneumoniae* (microimmunofluorescence), *Coxiella burnetii* (immunofluorescence), *L. pneumophila* serogroups 1 to 6 (enzyme immunoassay), and influenza virus (enzyme immunoassay). Definite diagnosis for the infections caused by the aforementioned pathogens was based on the following parameters: fourfold increases in antibody titers for acute versus convalescence phases, with final titers for *M. pneumoniae* of $\geq 1:160$, for *C. psittaci* of $\geq 1:256$, for *C. pneumoniae* of $\geq 1:512$, and for *C. burnetii* of $\geq 1:160$, and for *L. pneumophila* serogroups 1 to 6, respiratory syncytial virus, influenza A virus, and parainfluenza 3 virus, indicative of seroconversion.

A definite microbiological diagnosis was obtained on the basis of blood cultures, pleural fluid cultures, serological tests, *Legionella* antigen in urine, and *L. pneumophila* in respiratory secretion cultures. A presumptive diagnosis was considered after the detection of a pure or predominant bacterial organism in the Gram stain of respiratory secretions and the subsequent cultures.

Collection of blood samples. For all patients, serial venous blood samples were obtained at study entry and on days 1, 2, 3, 5, and 7 after inclusion. Because arterial blood comes directly from the lung, at least theoretically it could reflect the nature of local events more accurately than venous blood. Consequently, for a subgroup of patients, arterial and venous samples were simultaneously collected. The obtained blood was placed in tubes containing EDTA, immediately centrifuged, and stored at -80°C . Cytokine levels in the venous blood of eight healthy controls, adjusted for age and gender (five men and three women; age [mean \pm standard deviation (SD)], 54.1 ± 3.3 years), were also determined.

Laboratory processing. The concentrations of circulating proinflammatory (tumor necrosis factor alpha [TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines were determined by using a commercial enzyme immunoassay technique (Genzyme, Cambridge, Mass.). Standard sensitivity assays were used, and the thresholds detectable in serum were 3 pg/ml for IL-6, 1 pg/ml for IL-8, 0.5 pg/ml for TNF- α , 3 pg/ml for IL-1 β , and 4 pg/ml for IL-10.

Clinical and radiographic follow-up. At inclusion, the following variables were recorded: age, smoking and alcohol habits, comorbidity, initial signs and symptoms. The severity of the pneumonia was evaluated by the Pneumonia Severity Index developed by the Pneumonia Outcome Research Team, which stratifies patients into risk classes showing a direct correlation between risk classes and death (8). Antibiotic treatment was prescribed according to our protocol for SCAP: 20 patients (52.6%) received an extended-spectrum cephalosporin by the

TABLE 1. Characteristics and outcomes of included cases

Parameter	Value ^a
No. of patients.....	38
Radiographic pattern	
Unilateral.....	28 (74)
Bilateral.....	10 (26)
Total duration of hospital stay (mean \pm SD), days.....	10.8 \pm 5.7
ICU admission.....	13 (34.2)
Duration of ICU stay (mean \pm SD), days.....	2.1 \pm 3.9
Mechanical ventilation.....	8 (21.05)
Total mortality.....	11 (28.9)
Mortality at:	
48 h.....	2 (5.2)
3–7 days.....	4 (10.5)
>7 days.....	5 (13.1)
Mortality according to Pneumonia Severity Index (deaths/cases)	
II.....	2/12 (9.0)
III.....	1/11 (16.6)
IV.....	4/7 (57.1)
V.....	4/8 (50)

^a Reported as number (percentage), unless otherwise indicated.

intravenous route, whereas the remaining 18 patients (47.4%) were treated with the combination of an extended-spectrum cephalosporin and a macrolide (12 patients; 31.6%), both antibiotics plus rifampin (4 patients; 10.5%), and a macrolide plus rifampin (2 patients; 5.3%). The main clinical findings were monitored daily during the first 9 days of admission. A chest X-ray, routine venous blood test results, and arterial blood gas levels were obtained at entry and on days 1, 2, 3, 5, and 7.

Statistical analysis. Statistical calculations were performed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Microsoft Windows. Results are expressed as the mean \pm SD, median, interquartile range, and first and third quartiles. The significance levels were set to 0.05. The Mann-Whitney U test was used for comparisons of two groups. A comparison of serial cytokine measurements was made with the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance nonparametric test. A comparison of arterial and venous cytokine concentrations was carried out with the Wilcoxon-Mann-Whitney test.

RESULTS

Characteristics of the included population. The clinical and radiographic characteristics of the patients (27 men and 11 women; age [mean \pm SD], 58.4 ± 17.7 years) at presentation are summarized in Table 1. A definitive etiological diagnosis was obtained for 21 cases (55.2%), and a presumptive diagnosis was obtained for 8 additional cases (21.0%). There was no

TABLE 2. Causative agents

Diagnosis	No. (%) of cases	Microorganisms isolated	Diagnostic procedure	No. of cases
Definite	21 (55.2)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Blood culture	10
			Transthoracic needle aspiration	1
		<i>Legionella pneumophila</i>	Serology	4
			Urine antigen	2
		<i>Haemophilus influenzae</i>	Blood culture	1
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Blood culture	1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	Blood culture	1
<i>Chlamydia psittaci</i>	Serology	1		
Presumptive	8 (21)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sputum	6
		<i>Haemophilus influenzae</i>	Sputum	1
		Mixed oral flora	Sputum	1
None	9 (23.6)			

TABLE 3. Plasma cytokine values in 38 patients with SCAP correlated to when the sample was obtained after admission to the hospital

Cytokine	Admission (n = 15)	Median (interquartile range ^a) pg/ml at ^b :				
		Day				
		1 (n = 28)	2 (n = 30)	3 (n = 30)	5 (n = 27)	7 (n = 11)
TNF- α	14.2 (11.9–28.06)	12 (7.8–20.5)	10.5 (7.4–20.2)	14.4 (9.4–19.5)	17 (8.5–32.2)	20.4 (12.8–33.1)
IL-6	423 (162.1–1292)	218 (100.3–218.3)	83.8† (32–245)	66.41† (33.8–171.6)	29.51† (17.3–110.3)	71† (29–155.6)
IL-8	4.8 (2.1–27.1)	5.37 (1.9–17.9)	1.74‡ (0.7–4.5)	2.45‡ (1.03–4.9)	3.1 (1.9–7.4)	2.8 (2.5–14.4)
IL-10	11.85 (6.8–24.9)	8.8 (4.3–23.9)	6.4 (3.4–13)	5.7* (1.8–8)	5.5* (3.1–9.4)	9.5‡ (3.5–15.8)

^a First and third quartiles.

^b Statistically significant decreases over time in relation to basal levels of IL-6, IL-10, and IL-8 were determined with the Kruskal-Wallis nonparametric test and are indicated as follows: *, $P < 0.01$; †, $P < 0.001$; ‡, $P < 0.05$.

etiological diagnosis for the remaining nine cases (23.6%). As indicated in Table 2, *Streptococcus pneumoniae* was the most frequent agent, isolated in 17 cases (44.7%) (11 definite and 6 presumptive), whereas *L. pneumophila* was the second most predominant organism, affecting 6 patients (15.7%).

After the initial evaluation, 25 patients (65.7%) were admitted into a conventional hospital ward, whereas the other 13 (34.2%) were transferred to an intensive care unit (ICU). The main outcome variables are summarized in Table 1.

Plasma cytokine concentrations. As indicated in Table 3, all cytokines except for IL-1 β could be detected in the plasma samples studied, although with a wide range of values; TNF- α and IL-6 showed higher values. When the variations in concentrations were analyzed over time, IL-6, IL-8, and IL-10 showed a statistically significant trend toward a rapid decrease after 24 to 48 h, whereas TNF- α remained basically unmodified throughout the study period. In the eight healthy controls, all blood cytokine levels were below the level of detection.

Cytokine concentrations in venous and arterial blood. TNF- α and IL-6 achieved significantly higher levels in venous blood than in arterial blood; the opposite was found only for IL-8. Finally, IL-10 venous and arterial blood levels were similar.

Cytokine concentrations in relation to the etiological agent. As expected, *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* were the most common etiological agents, found in 17 and 6 episodes, respectively. Ten of the pneumococcal episodes were bacteremic. A comparison between the two etiologies is shown in Fig. 1. Initial IL-6 and IL-10 levels were higher in *Legionella* episodes than in pneumococcal episodes, although these differences were not statistically significant. By day 1, however, IL-10 levels became higher in pneumococcal pneumonia (mean, 42.7; median, 20.77; SD, 62.3) than in *Legionella* pneumonia (mean, 7.01; median, 5.12; SD, 3.9) ($P = 0.02$), and a marked but not statistically significant difference was found for IL-6 (respective means, medians, and SDs: 4,960.4 and 433.2, 605.1 and 154.1, and 8,923.8 and 723.3) ($P = 0.07$). On day 1, the third quartile for IL-10 (23.9 pg/ml) included 79.4% of patients with pneumococcal pneumonia but none with *Legionella* pneumonia, whereas the third quartile for IL-6 (218.3 pg/ml) included 75% of patients with pneumococcal pneumonia but 33% of patients with *Legionella* pneumonia. Finally, when changes in cytokine levels were compared with the initial values, by day 3 a significant reduction in IL-6 ($P = 0.01$) and IL-10 ($P = 0.01$) levels in plasma could be observed in the pneumococcal pneumonia group.

Cytokine concentrations in pneumococcal bacteremic and nonbacteremic episodes.

As shown in Fig. 2, bacteremic episodes of pneumococcal pneumonia showed higher TNF- α , IL-6, and IL-10 concentrations than nonbacteremic episodes. On admission, these differences were statistically significant for IL-6 (respective means, medians, and SDs for bacteremic and nonbacteremic episodes: 3,836.9 and 232.1, 1,337 and 172.2, and 4,210 and 153.6) ($P = 0.02$) and IL-10 (respective means, medians, and SDs for bacteremic and nonbacteremic episodes: 64.01 and 8.94, 47.4 and 8.36, and 56.6 and 2.9) ($P = 0.02$). The third quartile for IL-6 and IL-10 levels at admission (1,292 and 24.98 pg/ml, respectively) identified bacteremic pneumonia in 60 and 66% of the patients, whereas none of the nonbacteremic cases showed such concentrations. Finally, by day 2, there was a significant decrease in TNF- α concentrations ($P = 0.05$) in nonbacteremic cases, and the same was true by day 3 for IL-6 ($P = 0.03$) and IL-10 ($P = 0.03$).

Cytokine concentrations and pneumonia outcome. The serum cytokine concentrations in patients admitted and not admitted to the ICU were similar initially, but significant differences became apparent from day 1 on. At this time, the patients needing ICU admittance showed higher values, and this finding was significant for IL-10 (respective means, medians, and SDs for ICU-admitted versus non-ICU-admitted patients: 109.7 and 17.1, 21.1 and 6.7, and 167.2 and 36.28) ($P = 0.01$). The tendency for lower values in non-ICU-admitted patients than in ICU-admitted patients was significant for IL-6 by day 2 ($P = 0.001$) and for IL-10 by day 3 ($P = 0.003$).

When ventilated and nonventilated patients were compared, the initial cytokine concentrations tended to be higher in the former group. On day 1, statistically significant higher levels were seen in ventilated patients than in nonventilated patients for TNF- α (respective means, medians, and SDs: 23.1 and 12.8, 15.8 and 10.9, and 15.7 and 8.7) ($P = 0.05$), IL-8 (respective means, medians, and SDs: 56.8 and 7.9, 17 and 4.41, and 75.7 and 10.5) ($P = 0.04$), and IL-10 (respective means, medians, and SDs: 178 and 17.5, 172.7 and 7.64, and 206.3 and 34.5) ($P = 0.04$). In contrast to ventilated patients, nonventilated patients showed significant reductions in plasma TNF- α levels by day 1 ($P = 0.03$), IL-6 levels by day 2 ($P = 0.003$), and IL-10 levels by day 3 ($P = 0.01$).

In general, serum cytokine concentrations were higher in nonsurvivors than in survivors (Fig. 3). The third quartile for IL-10 initial concentrations (38.2 pg/ml) identified 50% of nonsurvivors and only 11% of survivors. However, these initial differences did not reach statistical significance. In the follow-

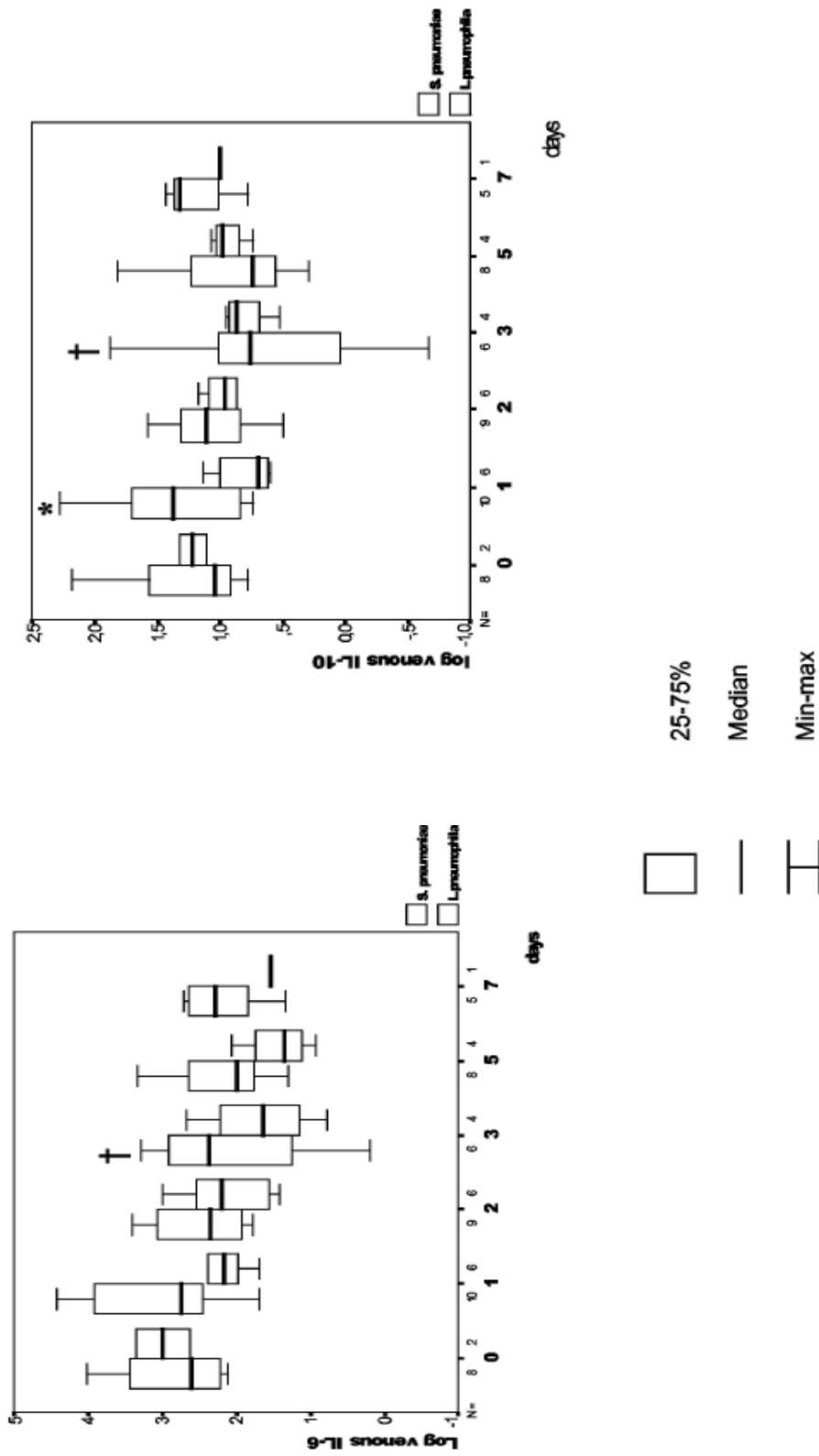


FIG. 1. Pneumococcal and *Legionella* pneumonias. Comparative changes in the absolute daily plasma IL-6 and IL-10 concentrations and their variations over time in relation to the initial values are shown. An asterisk indicates a statistically significant difference between the comparisons of groups, as determined by the Mann-Whitney U test. A dagger indicates a statistically significant difference in relation to basal values, as determined by the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance nonparametric test. For *P*-values, see the text. The numbers of observations in the subgroups of patients at different time intervals from admission. Min-max, minimum-maximum.

absolute daily plasma IL-6 and IL-10 concentrations and their variations over time in relation to the initial values are shown. An asterisk indicates a statistically significant difference between the comparisons of groups, as determined by the Mann-Whitney U test. A dagger indicates a statistically significant difference in relation to basal values, as determined by the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance nonparametric test. For *P*-values, see the text. The numbers of observations in the subgroups of patients at different time intervals from admission.

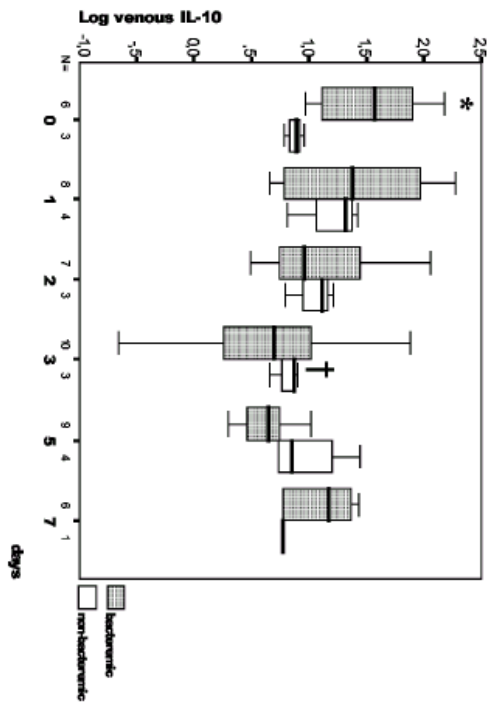
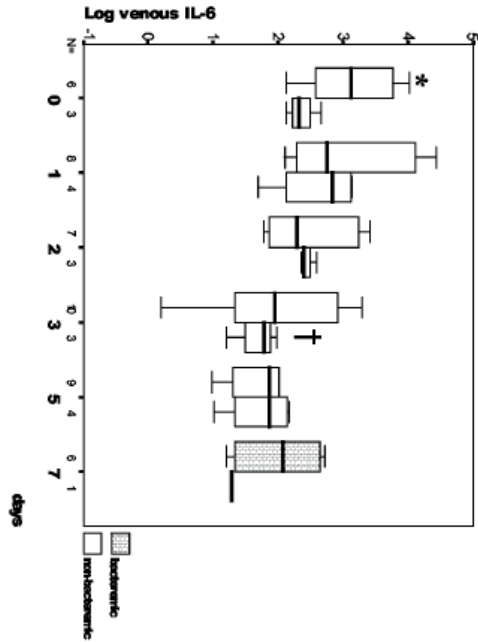


FIG. 2. Bacteremic and nonbacteremic pneumococcal pneumonias. Daily and time statistically significant difference in the comparisons of groups, as determined by the Mann-Whitney U test. A dagger indicates a statistically significant difference in relation to basal values. For *P* values, see the text. The pairs of small numbers appearing just below the horizontal axis represent the numbers of observations in the subgroups of patients at different time of



25-75%

Median

Min-max

course comparisons of plasma IL-6 and IL-10 concentrations are shown. An asterisk indicates a statistically significant difference in relation to basal values. A dagger indicates a statistically significant difference in relation to basal values. For *P* values, see the text. The pairs of small numbers appearing just below the horizontal axis represent the numbers of observations in the subgroups of patients from admission. Min-max, minimum-maximum.

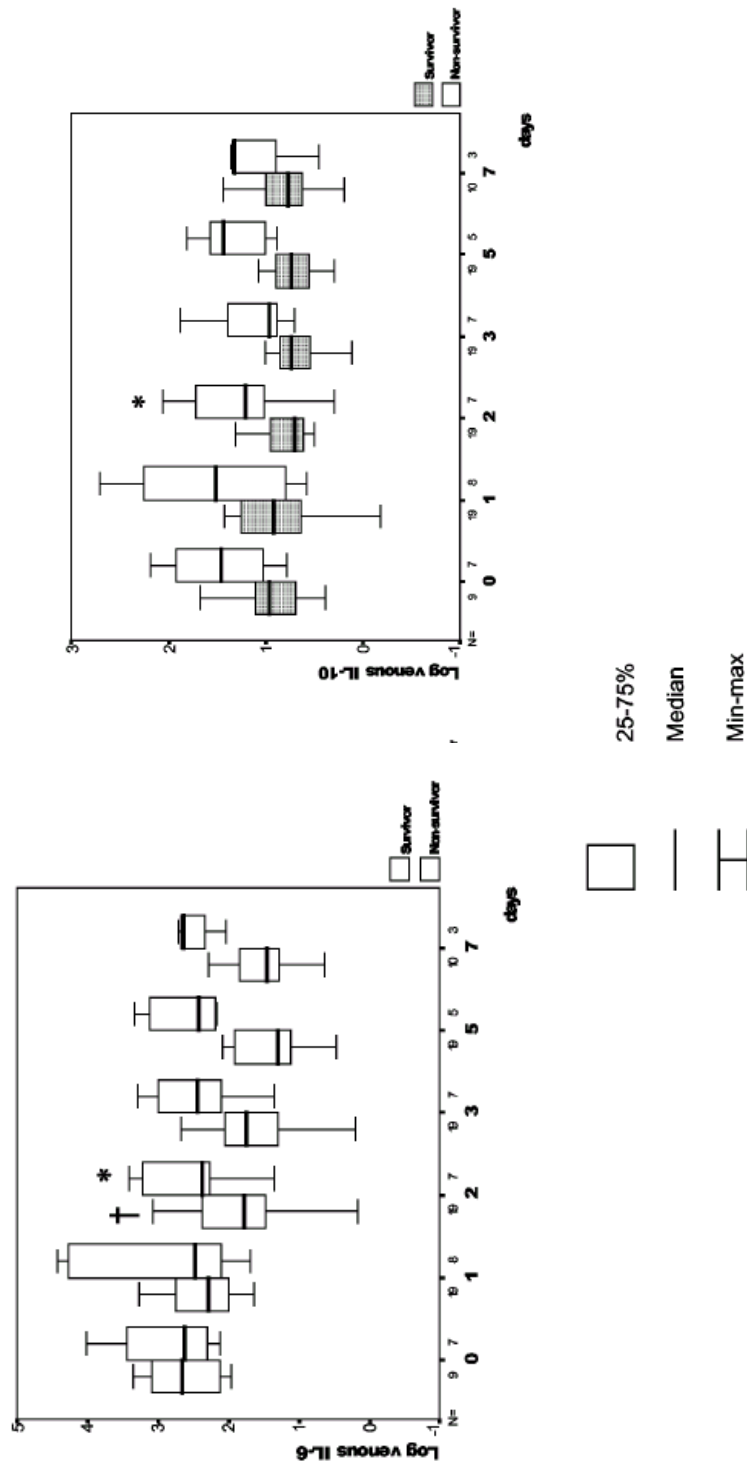


FIG. 3. Survivors and nonsurvivors. Daily changes as well as time course characteristics in plasma IL-6 and IL-10 concentrations are shown. An asterisk indicates a statistically significant difference in the comparisons of groups, as determined by the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance nonparametric test. A dagger indicates a statistically significant difference in relation to basal values, as determined by the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance nonparametric test. For *P* values, see the text. The pairs of small numbers appearing just below the horizontal axis represent the numbers of minimum-maximum observations in the subgroups of patients at different time intervals from admission. Min-max, minimum-maximum.

ing days and in contrast to nonsurvivors, survivors displayed significant reductions in IL-6 and IL-10 concentrations starting after day 2. Thus, at 48 h after admission, an IL-6 level of >87 $\mu\text{g/ml}$ predicted mortality with a sensitivity of 85%, a specificity of 56%, a positive predictive value of 83%, and a negative predictive value of 94%. In addition, an IL-10 level of >14.7 $\mu\text{g/ml}$ predicted mortality with a sensitivity of 71%, a specificity of 96%, a positive predictive value of 83%, and a negative predictive value of 91%.

DISCUSSION

The aim of this study was to analyze the time course profiles of inflammatory cytokines in the blood of patients with SCAP. The study was performed with a group of 38 patients admitted to our hospital during a 1-year period. This population can be considered representative of SCAP in terms of age, underlying diseases, etiology, initial severity, and outcome.

All studied cytokines except for IL-1 β could be detected in venous blood samples. This finding disagrees with previous results comparing serum and lung cytokine levels in community-acquired pneumonia, which supported a lung compartmentalized response not detected in blood (6). In this study, only IL-6 showed higher levels in the plasma of patients with pneumonia than in controls; this finding probably was due to the lower degree of severity of the episodes in the study of Dehoux et al. (6) than in our study. It has been suggested that in severe infections, these cytokines can circulate at high levels, leading to either excessive production or saturation of target receptor sites or both (5). In SCAP episodes, the development of an intense and maintained inflammatory systemic response has been associated with high plasma TNF- α , IL-6, and IL-8 levels (17); however, as we found, IL-6 usually achieves higher levels (6, 17).

As arterial blood can reflect the nature of pulmonary events more accurately than venous blood (7), we compared the cytokine concentrations obtained in both arterial and venous blood samples. Although differences existed, their significance does not justify the collection of an arterial blood sample. Only IL-8 displayed significantly higher levels in arterial blood, probably because of more compartmentalized production. Therefore, we concluded that a venous blood sample is adequate for monitoring the inflammatory response generated in pneumonia.

In our study, serial measurements confirmed that plasma IL-6, IL-8, and IL-10 concentrations were time dependent, whereas those of TNF- α and IL-1 β were not. Eventually, this time dependence of IL-6, IL-8, and IL-10 concentrations could be related to the clinical characteristics and outcome of the pneumonia. The fact that TNF- α and IL-1 β concentrations did not change over time would appear paradoxical but, as already noted, because they play a crucial role in the early phase of the inflammatory cascade (11), their production is predominantly local and their mean life is probably much shorter than that of IL-6 and IL-8. Thus, there could be an early release of TNF- α and IL-1 β from the lungs, detectable in venous blood but only during a premature and short period of time. The results obtained for our control group, in which blood cytokine levels were undetectable, support these interpretations.

Our experience suggests that blood cytokine concentrations

are related to the etiological diagnosis of pneumonia. *Legionella* pneumonia infections displayed higher initial concentrations of TNF- α , IL-6, IL-8, and IL-10. After 24 h, serum IL-6, IL-8, and IL-10 concentrations increased in the pneumococcal infections but decreased markedly in the *Legionella* infections. In pneumococcal pneumonia, the initial increase in cytokine levels has been related to bacterial lysis caused by β -lactams. It is known that the cell wall of *S. pneumoniae* is a potent inducer of inflammation, probably via the activation of complement and the induction of cytokines such as TNF- α and IL-1 β (20, 22). With the onset of the process of antibiotic-induced bacterial death, cell wall components released by bacterial autolytic enzymes exacerbate inflammation early in the course of therapy (19). *L. pneumophila* differs from *S. pneumoniae* in its capability to interfere with the inflammatory response for its own benefit. Several observations have suggested an ability of *L. pneumophila* to stimulate a more moderate cytokine response as an adaptive mechanism to facilitate its intracellular survival (15). In the same way, some authors have hypothesized that *L. pneumophila* induces the expression of IL-10 in human lungs and that endogenous IL-10 facilitates the pathogenesis of *Legionella* pneumonia in the lungs (16).

In pneumococcal pneumonia, the characteristics of the inflammatory response appeared to differ between bacteremic and nonbacteremic episodes; the concentrations in serum were much higher in the former subgroup. This result agrees with previous reports suggesting a positive correlation between IL-6 and IL-10 levels and SCAP (9). The inflammatory response was also more prolonged in bacteremic episodes, and this finding may be related to the imbalance between pro- and anti-inflammatory responses (11).

As other authors have reported (12), our results suggest a direct relationship between the intensity of the inflammatory response and the severity of the episode. Some authors re-

cently described the appearance of a sort of lung tissue damage related to mechanical ventilation that could enhance the release of inflammatory mediators (1, 8, 18). In our study, no correlation was found between the severity of the Simplified Acute Physiology Score and cytokine levels; however, a statistically significant correlation was observed between C-reactive protein and IL-6 levels only at day 3 ($r = 0.9, P = 0.03$). Finally, the potential interference of corticosteroid treatment with our data must have been rather small, considering that only 5 of 38 patients (13%) received this treatment and for a period shorter than 24 h.

In our experience, the initial serum cytokine concentrations tended to be higher in nonsurvivors than in patients with a favorable outcome, and this finding agrees with previous reports (16, 21). In the same way, the inflammatory response was significantly greater and more prolonged in nonsurvivors. In practice, blood IL-6 and IL-10 concentrations at day 2 predict mortality with a reasonable accuracy. Finally, our experience indicates that a fatal outcome was announced by a recrudescence of the inflammatory response.

So far, knowledge of the mechanisms involved in host-bacterium interactions is limited. For SCAP, there is an evident need to fill the gap in the understanding of pneumonia inflammatory mechanisms. At least hypothetically, the inappropriate balance of the mechanisms involved in inflammation may be responsible for a fatal outcome in some cases. A clearer un-

derstanding of the key events controlling these interactions could help to detect cases with a poorer prognosis earlier, to clarify the potential role of certain antibiotics in excessively exacerbated inflammation, and to develop appropriate tools for more effective control of the inflammatory response.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Ana Fernández-Agüera for technical assistance in the collection of samples as well Jordi Bonete for laboratory processing. We also thank the staff and residents of our departments, as well as the patients and their relatives, for their valuable collaboration in this study.

This work was supported by grants awarded by the Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR-FEPAR), 1997, and the Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS) (grant no. 99/0838). S. F.-S. was the recipient of a grant from the Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge for the year 1998.

REFERENCES

1. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.** 1999. International Consensus Conferences in Intensive Care Medicine: ventilator-associated lung injury in ARDS. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **160**:2118–2124.
2. **Austrian, R., and J. Gold.** 1964. Pneumococcal bacteremia with special reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann. Intern. Med.* **6**:759–770.
3. **Bethmann, A. N., F. Brasch, R. Nüsing, K. Vogt, H. D. Volk, K. M. Müller, A. Wendel, and S. Uhlig.** 1998. Hyperventilation induces release of cytokines from perfused mouse lung. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **157**:263–272.
4. **Busund, R., R. O. Lindsetmo, and I. T. Rasmussen.** 1990. Tumor necrosis factor and interleukin-1 appearance in experimental Gram-negative septic shock. *J. Lab. Clin. Med.* **116**:100–105.
5. **Creasey, A. A., P. Stevens, and J. Kenney.** 1991. Endotoxin and cytokine profile in plasma baboons challenged with lethal and sublethal *Escherichia coli*. *Circ. Shock* **33**:84–91.
6. **Dehoux, M. S., A. Boutten, J. Ostinelli, N. Seta, M. Dombret, B. Crestani, M. Deschenes, J. Trouillet, and M. Aubier.** 1994. Compartmentalized cytokine production within the human lung in unilateral pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **150**:710–716.
7. **Douzinas, E., P. D. Tsidemiadou, M. T. Piratidis, I. Andrianakis, A. Bobota-Chloraki, K. Katsouyanni, D. Sfyras, K. Malagari, and C. Roussos.** 1997. The regional production of cytokines and lactate in sepsis-related multiple organ failure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **155**:53–59.
8. **Fine, M. J., T. E. Auble, D. M. Yealy, B. H. Hanusa, L. A. Weissfeld, D. E. Singer, C. M. Coley, T. J. Marrie, and W. N. Kapoor.** 1997. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N. Engl. J. Med.* **336**:243–250.
9. **Glynn, P., R. Coakley, I. Kilgallen, N. Murphy, and S. O'Neill.** 1999. Circulating interleukin 6 and interleukin 10 in community acquired pneumonia. *Thorax* **54**:51–55.
10. **Lutsky, A. S., and L. N. Tremblay.** 1998. Multiple organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **157**:1721–1725.
11. **Martin, T. R.** 1997. Overview of cytokine networks in lung injury, p. 19–28. *In* M. R. Pratter and S. Nelson (ed.), *The role of cytokines in systemic and pulmonary medicine.* American Thoracic Society Continuing Education Monograph Series (Part II). American Thoracic Society, New York, N.Y.
12. **Meduri, G. U., E. A. Tolley, G. P. Chrousos, and F. Stentz.** 2002. Prolonged methylprednisolone treatment suppresses systemic inflammation in patients with unresolving acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **165**:983–991.
13. **Monton, C., A. Torres, M. El-Ebiary, X. Filella, A. Xaubet, and J. P. de la Bellacasa.** 1999. Cytokine expression in severe pneumonia: a bronchoalveolar lavage study. *Crit. Care Med.* **27**:1745–1753.
14. **Örtqvist, A., J. Hedlund, B. Wretling, A. Carlström, and M. Kalin.** 1995. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired pneumonia. *Scand. J. Infect. Dis.* **27**:457–462.
15. **Park, D. R., and S. J. Skerrett.** 2000. Cytokines in Legionella pneumophila infections, p. 155–188. *In* S. Nelson and T. R. Martin (ed.), *Cytokines in pulmonary disease.* Lung Biology in Health and Disease, vol. 141. Marcel Dekker, New York, N.Y.
16. **Park, D. R., and S. J. Skerrett.** 1996. IL-10 enhances the growth of *Legionella pneumophila* in human mononuclear phagocytes and reverses the protective effect of IFN- γ . *J. Immunol.* **157**:2528–2538.
17. **Shütte, M., J. Lohmeyer, S. Rosseau, S. Ziegler, C. Siebert, H. Kielisch, H. Pralle, F. Grimminger, H. Morr, and W. Seeger.** 1996. Bronchoalveolar and systemic cytokine profiles in patients with ARDS, severe pneumonia and cardiogenic pulmonary edema. *Eur. Respir. J.* **9**:1858–1867.
18. **Takata, M., J. Abe, H. Tanaka, Y. Kitano, S. Doi, T. Kohsaka, and K. Miyasaka.** 1997. Intraalveolar expression of tumor necrosis factor- α gene during conventional and high-frequency ventilation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **156**:272–279.
19. **Tuomanen, E.** 1993. Breaching the blood-brain barrier. *Sci. Am.* **268**:890–894.
20. **Tuomanen, E., R. Rich, and O. Zak.** 1987. Induction of pulmonary inflammation by components of the pneumococcal cell surface. *Am. Rev. Respir. Dis.* **135**:869–874.
21. **van Dissel, J. T., P. van Langevelde, R. G. J. Westendorp, K. Kwappenberg, and M. Frölich.** 1998. Anti-inflammatory cytokine profile and mortality in febrile patients. *Lancet* **351**:950–953.
22. **Winkelstein, J. A., and A. Tomasz.** 1978. Activation of the alternative complement pathway by pneumococcal cell wall teichoic acid. *J. Immunol.* **120**:174–178.

Impact of antibiotic therapy on systemic cytokine expression in pneumococcal pneumonia

S. Padrones · C. Garcia-Vidal · S. Fernández-Serrano · A. Fernández · C. Masuet · J. Carratalà · M. Coromines · C. Ardanuy · F. Gudiol · F. Manresa · J. Dorca

Received: 15 January 2010 / Accepted: 1 June 2010 / Published online: 22 June 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract The aim of this study was to compare the evolution of systemic cytokine levels over time in patients with pneumococcal pneumonia treated either with β -lactam monotherapy or with combination therapy (β -lactam plus fluoroquinolone). Prospective observational study of hospitalized non-immunocompromised adults with PP. Concentrations of IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- α were determined on days 0, 1, 2, 3, 5, and 7. Patients on β -lactam monotherapy were compared with those receiving combination therapy. Fifty-two patients were enrolled in the study. Concentrations of IL-6, IL-8, and IL-10 decreased

rapidly in the first days after admission, in accordance with the mean time to defervescence. High levels of IL-6 were found in patients with the worst outcomes, measured by the need for intensive care unit admission and mortality. No major differences in demographic or clinical characteristics or severity of disease were found between patients treated

with β -lactam monotherapy and those treated with combination therapy. IL-6 levels fell more rapidly in patients with combination therapy in the first 48 h ($p=0.016$). Our data suggest that systemic expression of IL-6 production in patients with PP correlates with prognosis. Initial combination antibiotic therapy produces a faster decrease in this cytokine in the first 48 h.

Introduction

Streptococcus pneumoniae remains a major cause of disease worldwide [1]. Among pneumonia pathogens, it is the most common cause of hospitalization in adults and the most frequent cause of death [2, 3]. Despite improvements in etiological diagnosis, effective antibiotic therapy, and advances in supportive care, the morbidity and mortality

S. Padrones · S. Fernández-Serrano · A. Fernández · F. Manresa · J. Dorca
Respiratory Medicine, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

C. Garcia-Vidal · J. Carratalà · F. Gudiol
Infectious Disease, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

C. Masuet
Preventive Medicine, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

M. Coromines
Immunology, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

C. Ardanuy
Microbiology Departments of Hospital Universitari de Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

C. Garcia-Vidal · J. Carratalà · F. Gudiol
REIPI (Spanish Network for the Research in Infectious Diseases), Madrid, Spain

C. Ardanuy
CIBER de Enfermedades Respiratorias ISCIII, Madrid, Spain

C. Garcia-Vidal (✉)
Infectious Disease Service, Hospital Universitari de Bellvitge, Feixa Llarga s/n 08907, L'Hospitalet, Barcelona, Spain
e-mail: carolgv75@hotmail.com

rates associated with pneumococcal pneumonia (PP) remain high. Case fatality rates for bacteremic pneumococcal pneumonia range between 7 and 35% [4].

A recent study [5] of the factors associated with early death in patients with community-acquired pneumonia (CAP) reinforces the classical concept that some deaths are closely related to inadequate host response [6]. Excessive cytokine response in patients with severe CAP has been linked to deleterious effects and poor prognosis [7–14]. However, most studies included populations that were heterogeneous in terms of patients, etiologies, and treatment. Significantly, specific studies on the role of cytokine response for predicting poor outcomes in patients with PP are scarce. In recent years, the modulation of the inflammatory response has emerged as a promising concept for improving the outcomes of CAP. Although it has been suggested that different antibiotic classes may have different effects on the systemic expression of cytokine production [15–17], information addressing this issue in PP is lacking.

We carried out a prospective study in order to analyze the relationship between systemic expression of cytokine production and outcomes in patients with PP, and to compare the evolution of systemic cytokine levels over time in patients treated either with β -lactam monotherapy or with combination therapy (β -lactam plus fluoroquinolone).

Materials and methods

Study subjects and study design

The study was carried out in a 900-bed university hospital for adults in Barcelona, Spain. The hospital serves an area of 1,100,000 inhabitants and admits approximately 24,000 patients per year. All non-immunocompromised patients with PP who were admitted to the hospital from January 2005 through December 2005 were prospectively recruited and followed up. Patients with neutropenia, HIV infection or transplantation were not included. Concentrations of circulating cytokines were determined for all patients. To assess the effects of treatment on the systemic expression of cytokine production, patients were divided into two groups: those initially treated only with β -lactams (β -lactam group), and those initially treated with combination therapy including β -lactams plus fluoroquinolone (combination therapy group). This prospective longitudinal observational study was approved by the Ethics Committee of our Institution.

Clinical evaluation and follow-up

At the initial visit, and before starting empirical antibiotic therapy, patients provided a complete clinical history, and

underwent physical examination and laboratory testing. Microbiological studies included two sets of blood cultures and sputum Gram stain and culture when available. Urinary antigen detection for *S. pneumoniae* was performed if indicated by the attending physician. Antimicrobial susceptibility was tested by the microdilution method, following the Clinical Laboratory Standard Institute methods and criteria [18, 19].

Empiric antibiotic therapy was administered according to the hospital's guidelines, which recommend the administration of a β -lactam agent (ceftriaxone or amoxicillin-clavulanate) with or without a fluoroquinolone (levofloxacin). Combination therapy was recommended for patients with clinically suspected *Legionella* or an atypical pathogen, or in the case of severe CAP in the absence of a demonstrative sputum Gram stain. Levofloxacin monotherapy was allowed for selected cases (i.e., those patients with allergy to β -lactam agents and no prior quinolone use).

Patients were seen daily during their hospital stay by one or more of the investigators who provided medical advice when requested and recorded demographic characteristics, underlying disease, clinical features, vaccination status, causative agents, therapy, and outcomes in a computer-assisted protocol.

Definitions

Pneumococcal pneumonia was diagnosed in patients with signs and symptoms of an acute-onset lower respiratory tract infection, a new infiltrate on chest radiograph, and one or more cultures positive for *S. pneumoniae* obtained from blood, normally sterile fluids, or sputum and/or a positive test for detection of urinary antigen. Only good quality samples of sputum (<10 squamous epithelial cells and >25 leucocytes per field) were accepted for processing. *S. pneumoniae* was identified using standard microbiology procedures. *S. pneumoniae* antigen in urine was detected by using a rapid immunochromatographic assay (Now™; Binax, Portland, ME, USA).

S. pneumoniae strains were serotyped. Molecular characterization was performed by pulsed field gel electrophoresis after restriction with *Sma*(I) and selected strains were analyzed by multilocus sequence typing (MLST), as previously reported [1].

The diagnosis of septic shock was based on a systolic blood pressure of less than 90 mmHg and peripheral hypoperfusion with clinically suspected uncontrolled infection. Early death was defined as death due to any cause \leq 48 h of hospitalization. Overall mortality was defined as that due to any cause within 30 days of hospitalization. The severity of illness at presentation was quantified using the validated PORT prediction rule for 30-day mortality and medical complications in CAP, as described elsewhere [20].

Collection of blood samples and laboratory processing

For all patients, serial venous blood samples were collected at inclusion, immediately prior to the initiation of antibiotic therapy, and on days 1, 2, 3, 5, and 7. The blood obtained was placed in tubes containing EDTA, immediately centrifuged, and stored at -80°C . The assays were performed by one of the authors (M.C.), who was blinded to the clinical details of individual patients. The circulating levels of cytokines IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- α were measured.

The IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- α concentrations were measured using commercially available kits (GENZYME, Cambridge, MA, USA). The procedure consisted of a solid-

phase chemiluminescent immunometric assay. The standards defined in the operator's manual were applied. The limits of detection were 3 pg/ml for IL-6, 1 pg/ml for IL-8, 4 pg/ml IL-10, and 0.5 pg/ml for TNF- α .

Statistical analysis

To analyze the relationship between systemic expression of cytokine production and the severity of PP we compared serial serum cytokine measurements in patients who had severity markers (bacteremia, ICU admission, and mortality) with those who did not. A comparison of serial cytokine measurements was made using the Kruskal–Wallis one-way analysis of variance nonparametric test.

Table 1 Demographic characteristics and the main clinical features of patients

Characteristic	All patients	
	N=52	Percentage
Demographics		
Age, mean years (SD)	58.8 (19.3)	
Male	34	65.4
Current smoker	21	40.4
Heavy drinker	4	7.7
Vaccination status		
Influenza vaccine (season)	11	21.2
Pneumococcal vaccination	4	7.7
Underlying disease		
COPD	14	26.9
Chronic heart disease	10	19.2
Diabetes mellitus	9	17.3
Cerebrovascular disease	4	7.7
Chronic liver disease	1	1.9
Chronic renal disease	0	0
Time from pneumonia onset to inclusion	2 (0–15)	
Previous use of statins	6	11.5
Concomitant use of steroids	2	3.8
Concomitant use of NSAID drugs	5	9.6
High-risk PSI (IV–V)	31	59.6
Clinical features		
Altered mental status on admission	11	21.1
Renal failure (Cr > 150 mmol/l)	15	28.8
Urea, median mmol/dl (range)	9.5 (2–30)	
Heart rate, mean (SD)	104.5 (19.20)	
Respiratory rate, mean (SD)	33.5 (9.6)	
Temperature, median (range)	38.5 (36–40)	
Leucocytes, mean (SD)	14,431 (7406)	
PO $_2$ /fiO $_2$, mean (SD)	243 (43.8)	
PO $_2$ /fiO $_2$ <300	43	82.7
Multilobar infiltrates	24	46.2
Shock at admission	7	13.5
Pleural effusion	12	23.1

COPD, chronic obstructive pulmonary disease; NSAID, nonsteroidal anti-inflammatory drug; PSI, pneumonia severity index

To assess the effects of treatment on the systemic expression of cytokine production, we compared the combination therapy and β -lactam groups. Patients who initially received other antibiotic treatments were excluded. To detect significant differences between groups we used the chi-squared test with continuity correction for categorical variables. Normally distributed data were compared by using unpaired t tests and the Mann–Whitney U test was used for analysis of variables with non-normal distribution. Studies evaluating serum concentrations of cytokines over time (the fall-down pattern) were performed using the general linear model for repeated-measures tests, considering both within-subject and between-subject factors (differences attributable to antimicrobial therapy). The contrasts selected were “difference” and “polynomial” for within subject factors. The analysis was adjusted for potential confounding variables (use of corticosteroids or ICU admission). The

data analyses were performed with SPSS software version 13.0. In all analyses, we considered p values less than 0.05 to be statistically significant.

Results

Characteristics of patients and evolution of cytokines over time

Fifty-two hospitalized patients with PP were included. Their demographic characteristics and main clinical features are shown in Table 1. The diagnosis of PP was established with the use of one or more of the following methods: blood culture (21 cases), sputum Gram stain and culture (20 cases), urinary antigen test (17 cases), and transthoracic needle aspiration (2 cases). All *S. pneumoniae* were

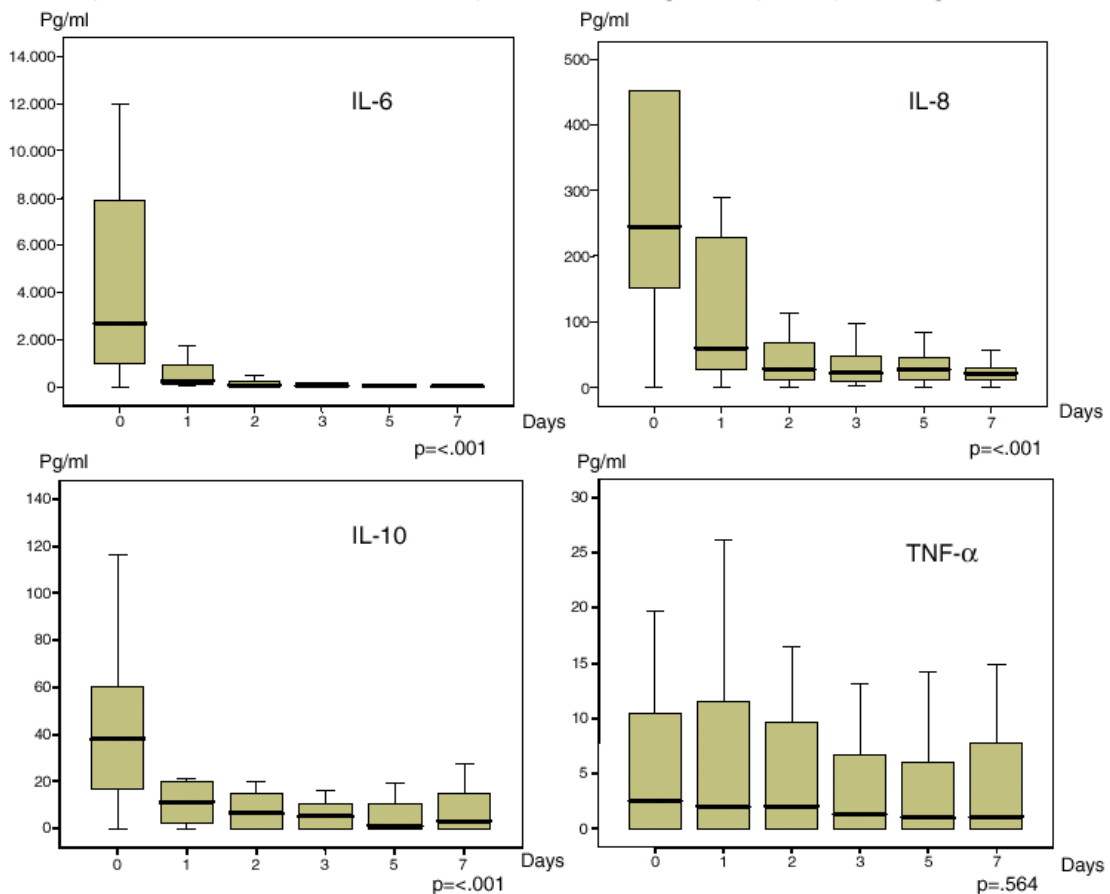


Fig. 1 Sequential cytokine levels in patients with severe pneumococcal pneumonia. All cytokines except TNF- α showed a statistically significant trend toward a rapid decrease after 24–48 h

Table 2 Outcomes of pneumococcal pneumonia of patients hospitalized for community-acquired pneumonia

Outcomes	All	
	N=52	Percentage
Bacteremia	21	36.8
ICU admission	15	29
Length of ICU admission median (range)	5.5 (2–72)	
Need for mechanical ventilation	9	17.3
Non-invasive mechanical ventilation	3	5.7
Invasive mechanical ventilation	6	11.5
Mechanical ventilation-free days median (range)	6.5 (2–72)	
Early mortality	1	1.9
Overall mortality	8	15.4

susceptible to ciprofloxacin (MIC range 0.5 to 2 µg/ml) and to levofloxacin (MIC range 0.5 to 1 µg/ml). Using current non-meningeal breakpoints for beta-lactams, all strains were penicillin (MIC range ≤0.03 to 2 µg/ml), amoxicillin

(MIC range ≤0.03 to 2 µg/ml), and cefotaxime (MIC range ≤0.03 to 1 µg/ml) susceptible. The most frequent serotypes were 3, 1, and 5, which accounted for 51.4% of strains. These serotypes were related to ST260 and ST180 for serotype 3, and ST306 for serotype 1.

Concentrations of all the cytokines studied were detected in peripheral venous blood samples in all patients, although with a wide range of values. Figure 1 shows the evolution of cytokines over time. At admission, IL-6 and IL-8 showed the highest values. When the variations in concentrations were analyzed over time, all cytokines except TNF-α, showed a statistically significant trend toward a rapid decrease after 24–48 h. TNF-α remained basically unmodified throughout the study period.

Clinical outcomes and their relationship with systemic cytokines

The main outcomes of patients are summarized in Table 2. Mean time to defervescence was 2.19 days (SD 1.19). After the initial evaluation in the emergency department, 37

Table 3 Results of cytokines on days 0 and 1 in the groups with or without bacteremia, with or without ICU admission, and deaths or survivors

Cytokine	Bacteremia			ICU admission			Mortality		
	No (n=31) Median (P ₂₅₋₇₅)	Yes (n=21) Median (P ₂₅₋₇₅)	p	No (n=37) Median (P ₂₅₋₇₅)	Yes (n=15) Median (P ₂₅₋₇₅)	p	Survivors (n=46) Median (P ₂₅₋₇₅)	Deaths (n=8) Median (P ₂₅₋₇₅)	p
Day 0									
IL-6	2,945 (919–4,550)	2,700 (778–10,335)	NS	1,890 (850–4,488)	10,335 (2,700–21,160)	0.028	2190 (835–4,492)	8,878 (6,236–18,453)	0.020
IL-8	181 (67–307)	152 (43–975)	NS	165 (54–256)	452 (43–1,675)	NS	180 (51–392)	148 (48–5,953)	NS
IL-10	23 (13–84)	32 (9–60)	NS	20 (2–63)	47 (29–207)	NS	26 (13–64)	91 (12–259)	NS
TNF-α	3 (0.2–9.5)	13 (0–19)	NS	3 (0–10)	12 (2–19)	NS	3 (0–11)	11 (4–17)	NS
Day 1									
IL-6	276 (99–1,146)	753 (234–2,375)	NS	237 (99–848)	2700 (1,405–16,029)	<.001	276 (107–850)	8,992 (2,347–21,518)	<.001
IL-8	62 (19–229)	39 (16–164)	NS	36 (15–76)	288 (176–837)	<.001	41 (19–165)	217 (55–1,689)	0.050
IL-10	12 (3–19)	10 (14–73)	NS	11 (4–19)	51 (5–203)	NS	11 (3–19)	66 (3–232)	NS
TNF-α	3 (0–5)	11 (1.2–15)	NS	3 (0–11)	5 (0.5–11)	NS	3 (0–12)	6 (0–19)	NS
Day 2									
IL-6	94 (24–217)	87 (66–458)	NS	66 (24–112)	308 (118–1,626)	<.001	85 (30–228)	2,522 (1,091–5,246)	0.001
IL-8	24 (9–76)	22 (3–39)	NS	20 (9–54)	54 (2–92)	NS	20 (6–59)	66 (30–508)	NS
IL-10	7 (0–13)	7 (0–25)	NS	7 (0–13)	9 (3–65)	NS	7 (0–12)	38 (0–104)	NS
TNF-α	2 (0–9)	10 (2–16.4)	NS	2 (0–13)	6 (2–12)	NS	3 (0–12)	2 (0–15)	NS

patients (71.2%) were admitted to a conventional hospital ward, whereas the other 15 (28.8%) were transferred to an intensive care unit (ICU). The median length of ICU stay was 7 days (range 2–72 days). The early and overall case fatality rates were 1.9% and 15.4% respectively. The evolution of systemic cytokines concentration over time in relation to bacteremia was determined, as well as ICU admission and mortality. Table 3 shows serum levels of cytokine on days 0, 1, and 2 in relation to these outcomes.

In summary, no significant differences in cytokine levels were found in patients with or without bacteremia. IL-6 was significantly higher in patients requiring ICU admission and in patients who died. High levels of IL-8, especially on day 1, were also documented in patients with ICU admission and in those who died.

On day 0, the third quartile for IL-6 initial concentrations identified 83.3% non-survivors and only 16.2% survivors. Thus, at admission, an IL-6 level >5,206 pg/ml predicted

Table 4 Demographic characteristics, main clinical features and outcomes of patients by treatment group

Characteristic	β -lactams group		Combination therapy group		<i>p</i>
	<i>N</i> =19		<i>N</i> =20		
Demographics					
Age, median years (range)	63.3 (18.0)		56.5 (17.0)		0.232
Male	14	73.7	12	60	0.501
Current smoker	6	31.6	9	47.4	0.508
Heavy drinker	3	15.8	1	5	0.287
Vaccination status					
Influenza vaccine (seasonal)	4	21.0	5	25.0	0.317
Pneumococcal vaccination	1	5.2	3	15.0	0.699
Underlying disease					
COPD	7	36.8	4	20.0	0.160
Chronic heart disease	9	47.4	0	0	<0.001
Diabetes mellitus	4	21.1	3	15.0	0.451
Cerebrovascular disease	3	15.8	0	0	0.036
Chronic liver disease	1	5.3	0	0	0.241
Chronic renal disease	0	0	0	0	1
Time from pneumonia onset to inclusion	2.5 (0–15)		3 (1–15)		0.975
Previous use of statins	3	15.8	2	10.0	0.661
Concomitant use of steroids	2	10.5	0	0	0.230
Concomitant use of NSAID drugs	3	15.8	0	0	0.106
High-risk PSI (IV–V)	13	68.4	14	70	1
Clinical features					
Altered mental status on admission	4	21.0	3	15.0	0.451
Renal failure (Cr >150 mmol/l)	8	42.1	5	25.0	0.320
Urea, median mmol/dl (range)	11 (2–30)		11 (5–25)		0.538
Respiratory rate, mean (SD)	31.9 (8.3)		36.9 (9.1)		0.123
Temperature, median (range)	38.5 (37.7–38.2)		38.5 (36–40)		0.813
PO ₂ /f _i O ₂ , mean (SD)	238.0 (43.0)		232.6 (42.6)		0.760
PO ₂ /f _i O ₂ <300	16	84.2	18	90	0.146
Multilobar infiltrates	2	10.5	18	90	<0.001
Shock at admission	3	15.8	3	15.0	0.408
Pleural effusion	3	15.8	5	25.0	0.727
Bacteremia	8	42.1	6	30.0	0.325
Outcomes					
ICU admission	6	31.6	6	30.0	1
Need for mechanical ventilation	3	15.8	4	20.0	0.732
Early mortality	1	5.3	0	0	0.299
Overall mortality	3	15.8	5	25.0	0.694

mortality with a sensitivity of 100%, a specificity of 79.3%, a positive predictive value of 80.6%, and a negative predictive value of 100%. On day 1, levels of IL-6 >4,097 pg/ml predicted mortality with a sensitivity of 100%, a specificity of 100%, a positive predictive value of 80%, and a negative predictive value of 94.3%.

Effects of antibiotic treatment on cytokine production

To assess the effects of treatment on systemic cytokine production, we compared 19 patients in the β -lactam group (ceftriaxone in 15 cases and amoxicillin-clavulanate in 4) with 20 patients in the combination therapy group (ceftriaxone plus levofloxacin in all cases). Thirteen patients (5 initially treated with combination therapy [β -lactam plus macrolide], 4 initially treated with linezolid, and 4 initially treated with a single fluoroquinolone treatment were excluded from the analysis. There were no differences in the characteristics of the patients who were included and those who were excluded. Demographic characteristics, the main clinical features and outcomes of patients by treatment group are shown in Table 4. Interestingly, no significant differences in demographic characteristics, vaccination status, time from pneumonia onset to inclusion, previous use of steroids, statins, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, severity of infection, bacteremia and outcomes were found between the groups. Chronic heart and cerebrovascular diseases were more frequent in patients in the β -lactam group. Conversely, the presence of multilobar infiltrates was more frequent in the combination therapy group.

As shown in Fig. 2, the IL-6 decrease was more rapid in the combination therapy group, particularly in the first few days ($p=0.016$). TNF- α levels were lower in the combination therapy group, but the differences did not reach statistical significance. No differences in the evolution over time of IL-8 were detected. Conversely, levels of anti-inflammatory cytokines (IL-10) remained higher ($p<0.001$) in the combination therapy group. All these differences remained significant after adjustment for the use of corticosteroids and ICU admission.

Discussion

Previous studies of CAP have noted that most cytokines can be detected in systemic circulation and show a significant pattern of decline in the first hours of treatment. Indeed, all cytokines studied in the present report were detected in venous blood samples in patients with PP at hospital admission. Thus, most patients developed a systemic extension of the initially compartmentalized immune response in the lung. Interestingly, all these cytokines, except for TNF- α , declined in the first 48 h.

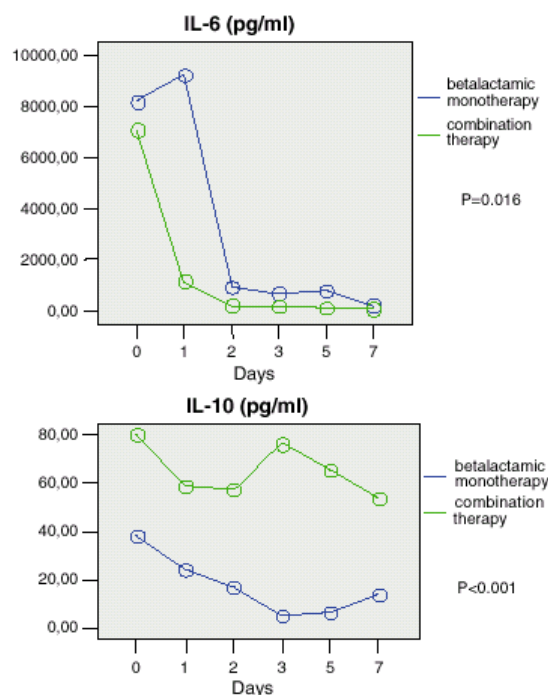


Fig. 2 Evolution of IL-6 and IL-10 systemic concentrations by treatment group. IL-6 decreased faster in the combination therapy group ($p=0.016$). Conversely, levels of anti-inflammatory cytokines were higher in this group ($p<0.001$). This analysis has been adjusted for potential confounder variables (i.e., the use of corticosteroids or ICU admission)

These decreases correlate clinically with the time to clinical defervescence.

Previous studies have reported that an excess of proinflammatory cytokines is associated with poor prognosis of CAP [7–14]. Our results showed a similar relationship between high levels of cytokines and poor outcomes in the specific population with PP. We demonstrated that levels of IL-6 on admission, as well as levels of IL-6 and IL-8 in the first 48 h, were the best markers for predicting poor outcomes, in agreement with previous studies analyzing any etiology of CAP. A recent study [11] found that the addition of biological markers such as C-reactive protein to severity scoring systems (PSI, CURB-65 and CRB-65) improves the 30-day mortality prediction. Further studies are currently needed to establish the potential role of IL-6 and IL-8 in supplementing prognosis scoring systems in order to achieve a more accurate identification of patients with a greater probability of death.

The most notable finding of this study was the difference in the cytokine profile between patients treated with β -lactam monotherapy and those treated with combination therapy. We found that combination therapy of a β -lactam

plus fluoroquinolone produced a faster decrease in IL-6 in the initial 48 h of treatment in patients with PP. Taking into account the relationship between IL-6 and poor prognosis for PP, the modulation of the expression of this cytokine may be a key point for improving patient outcomes. Whether combination therapy can improve outcomes in patients with CAP is a controversial issue [21–26]. Moreover, most studies have used the combination of β -lactam plus macrolide, not β -lactam plus fluoroquinolone.

A possible explanation for the differences observed in the pattern of systemic cytokine production over time is that β -lactam cell wall activity causes the release of cell wall components, which act as potent inflammatory inducers [27–30]. One hypothesis is that combination therapy offers more rapid microbial killing due to the presence of quinolones and hence shortens the exposure of the host to microbial products. Additionally, fluoroquinolones have an intrinsic immunomodulation effect that inhibits the production of certain pro-inflammatory cytokines [15–18, 31]. The possible beneficial effects of fluoroquinolones on the systemic expression of cytokine response when combined with β -lactam therapy in patients with PP have not been previously explored, but our results suggest that their potential anti-inflammatory and immunomodulatory effects persist when combined with β -lactam. A previous study [8] explored the effects of fluoroquinolone monotherapy in modulating the cytokine response in patients with PP, finding that it achieved a faster decrease in serum TNF- α production at 120 h post-admission than β -lactam monotherapy.

Our study has limitations that should be acknowledged. First, the study was observational and included a relatively small number of patients. Second, only 4 patients were treated with fluoroquinolone monotherapy, precluding comparisons in the pattern of systemic expression of cytokine production. Finally, it should be emphasized that our aim was not to establish whether combination therapy of β -lactam plus fluoroquinolone has a clear impact on survival in the first hours after admission for PP. Therefore, our results should be interpreted with caution.

We found that IL-6, IL-8, and IL-10 were detected in venous blood samples in all patients with PP at hospital admission with a rapid decrease in the first 48 h, correlating with clinical defervescence. High levels of IL-6 were found in patients with the worst outcomes. Initial β -lactam and fluoroquinolone combination antibiotic therapy produced a faster decrease in this cytokine in the first 48 h.

Acknowledgements This study was supported by research grants of Fundació Pi I Sunyer; FUCAP (Fundació Catalana de Pneumologia); REIPI RD06/0008 from the Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III, Spanish Network for the Research in Infectious Diseases; by FIS (070864); and by Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (Dr. Garcia-Vidal).

Conflict of interest None.

References

1. Ardanuy C, Tubau F, Pallarès R et al (2009) Epidemiology of invasive pneumococcal disease among adult patients in Barcelona before and after pediatric 7-valent pneumococcal conjugate vaccine introduction 1997–2007. *Clin Infect Dis* 48:57–64
2. Barlett JG, Mundy LM (1995) Community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 333:1618–1624
3. Rosón B, Carratalà J, Dorca J et al (2001) Etiology, reasons for hospitalization, risk classes and outcomes of patients with community-acquired pneumonia hospitalized on the basis of conventional admission criteria. *Clin Infect Dis* 33:158–165
4. Feikin DR, Schuchat A, Kolczak M (2000) Mortality from invasive pneumococcal pneumonia in the era of antibiotic resistance, 1995–1997. *Am J Public Health* 90:223–229
5. Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé N, Carratalà J et al (2008) Early mortality in patients with community-acquired pneumonia: causes and risk factors. *Eur Respir J* 32:733–739
6. Austrian R, Gold J (1964) Pneumococcal bacteremia with especial reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med* 60:759–770
7. Antunes G, Evans SA, Lordan JL et al (2002) Systemic cytokine levels in community-acquired pneumonia and their association with disease severity. *Eur Respir J* 20:990–995
8. Calbo E, Alsina M, Rodríguez-Carballeira M et al (2008) Systemic expression of cytokine production in patients with severe pneumococcal pneumonia: effects of treatment with a β -lactam versus a fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 52:2359–2402
9. Fernández-Serrano S, Dorca J, Coromines M et al (2003) Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia. *Clin Diagn Lab Immunol* 10:813–820
10. Kellum JA, Kong L, Fink MP et al (2007) Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) study. *Arch Intern Med* 167:1655–1663
11. Menendez R, Martínez R, Reyes S et al (2009) Biomarkers improve mortality prediction by prognostic scales in community-acquired pneumonia. *Thorax* 64:587–591
12. Monton C, Torres A, El-Ebiary M et al (1999) Cytokine expression in severe pneumonia: a bronchoalveolar lavage study. *Crit Care Med* 27:1745–1753
13. Örtqvist A, Hedlund J, Wretling B et al (1995) Diagnostic and prognostic value of Interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired pneumonia. *Scand J Infect Dis* 27:457–462
14. Xu F, Droemann D, Rupp J et al (2008) Modulation of the inflammatory response to *Streptococcus pneumoniae* in a model of acute lung tissue infection. *Am J Respir Cell Mol Biol* 39:522–529
15. Demartini G, Esposti D, Marthyn P et al (2004) Effect of multiple doses of clarithromycin and amoxicillin on IL-6, IFN γ and IL-10 plasma levels in patients with community-acquired pneumonia. *J Chemother* 16:82–85
16. Choi J, Song M, Kim G et al (2003) Effect of moxifloxacin on production of proinflammatory cytokines from human peripheral blood mononuclear cells. *Antimicrob Agents Chemother* 47:3704–3707
17. Dalhoff A, Shalit I (2003) Immunomodulatory effect of quinolones. *Lancet Infect Dis* 3:359–371
18. Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) (2009) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 19th informational supplement. CLSI document M100-S18. Wayne, PA: CLSI

19. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (2006) Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard, 7th edn. CLSI document M7-A6. CLSI, Wayne, PA
20. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM et al (1997) A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 336:243–250
21. Waterer GW, Somes GW, Wunderink RG (2001) Monotherapy may be suboptimal for severe bacteremic pneumococcal pneumonia. *Arch Intern Med* 161:1837–1842
22. Martinez JA, Horcajada JP, Almela M et al (2003) Addition of a macrolide to a beta-lactam-based empirical antibiotic regimen is associated with lower in-hospital mortality for patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 36:389–395
23. Baddour LM, Yu VL, Klugman KP et al (2004) Combination therapy lowers mortality among severely ill patients with pneumococcal pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 170:440–444
24. Rodriguez A, Mendia A, Sirvent JM et al (2007) Combination antibiotic therapy improves survival in patients with community-acquired pneumonia and shock. *Crit Care Med* 35:1493–1498
25. Harbarth S, Garbino J, Pugin J et al (2005) Lack of effect of combination antibiotic therapy on mortality in patients with pneumococcal sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 24:688–690
26. Aspa J, Rajas O, Rodriguez de Castro F et al (2006) Impact of initial antibiotic choice on mortality from pneumococcal pneumonia. *Eur Respir J* 27:1010–1019
27. Heumann D, Barras C, Severin A et al (1994) Gram-positive cell wall stimulates synthesis of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 by human monocytes. *Infect Immun* 62:2715–2721
28. Tomasz A, Saukkonen D (1989) The nature of cell wall derived inflammatory components of pneumococci. *Pediatr Infect Dis J* 8:902–903
29. Tuomanen E, Rich R, Zak O (1987) Induction of pulmonary inflammation by components of the pneumococcal cell surface. *Am Rev Respir Dis* 135:869–874
30. Tuomanen E, Vanholder R, De Paepe P et al (1996) Immunomodulating effects of antibiotics: literature review. *Infection* 24:275–291
31. Blaine T, Pollice P, Rosier R et al (1997) Modulation of the production of cytokines in titanium-stimulated human peripheral blood monocytes by pharmacological agents: the role of camp-mediated signaling mechanism. *J Bone Jt Surg* 79:1519–1528

RESEARCH

Open Access

Effect of corticosteroids on the clinical course of community-acquired pneumonia: a randomized controlled trial

Silvia Fernández-Serrano¹, Jordi Dorca^{1,2*}, Carolina Garcia-Vidal^{3,4}, Núria Fernández-Sabé³, Jordi Carratalà^{3,4}, Ana Fernández-Agüera^{1,3}, Mercè Corominas⁵, Susana Padrones¹, Francesc Gudiol^{3,4}, Frederic Manresa¹

Abstract

Introduction: The benefit of corticosteroids as adjunctive treatment in patients with severe community-acquired pneumonia (CAP) requiring hospital admission remains unclear. This study aimed to evaluate the impact of corticosteroid treatment on outcomes in patients with CAP.

Methods: This was a prospective, double-blind and randomized study. All patients received treatment with ceftriaxone plus levofloxacin and methyl-prednisolone (MPDN) administered randomly and blindly as an initial bolus, followed by a tapering regimen, or placebo.

Results: Of the 56 patients included in the study, 28 (50%) were treated with concomitant corticosteroids. Patients included in the MPDN group show a more favourable evolution of the pO₂/FIO₂ ratio and faster decrease of fever, as well as greater radiological improvement at seven days. The time to resolution of morbidity was also significantly shorter in this group. Six patients met the criteria for mechanical ventilation (MV): five in the placebo group (22.7%) and one in the MPDN group (4.3%). The duration of MV was 13 days (interquartile range 7 to 26 days) for the placebo group and three days for the only case in the MPDN group. The differences did not reach statistical significance. Interleukin (IL)-6 and C-reactive protein (CRP) showed a significantly quicker decrease after 24 h of treatment among patients treated with MPDN. No differences in mortality were found among groups.

Conclusions: MPDN treatment, in combination with antibiotics, improves respiratory failure and accelerates the timing of clinical resolution of severe CAP needing hospital admission.

Trial Registration: International Standard Randomized Controlled Trials Register, ISRCTN22426306.

Introduction

Despite advances in diagnostic methods and antibiotic treatment, community-acquired pneumonia (CAP) remains an important cause of mortality [1-3]. In the industrialized countries, CAP is the sixth highest cause of mortality and the first among infectious diseases. Although mortality in patients with CAP fell dramatically with the introduction of antibiotics in the 1950s, since then it has remained relatively stable. Current series report an overall mortality rate of 8 to 15% [4-6].

A recent study [7] of the factors associated with early death in patients with CAP reinforces the classical concept that some deaths were not due to failure to eradicate the microorganism causing CAP, but are closely related to inadequate host response [8]. Excessive cytokine response in patients with severe CAP has been linked in many previous studies with deleterious effects and poor prognosis [9-13].

In this context, the use of immunomodulation appears to be an appealing option for improving prognosis in CAP. Theoretically, an anti-inflammatory treatment given prior to antibiotic therapy could prevent an excessive inflammatory response, improving the prognosis of more severe episodes of CAP. Therefore, the use of corticosteroids as an adjunct therapy for pneumonia has

* Correspondence: jdorca@bellvitgehospital.cat

¹Respiratory Medicine Department, Hospital Universitari de Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, Feixa Llarga s/n, L'Hospitalet de Llobregat 08907, Barcelona, Spain
Full list of author information is available at the end of the article

been a matter of debate [14-16]. Corticosteroids are known to reduce the production of the main inflammatory cytokines (TNF α , IL-1 β , IL-8, and IL-6), and the subsequent recruitment of inflammatory cells into the alveolar space leading to a more equilibrated response.

Here we conducted a prospective, randomized, double blind, placebo-controlled trial to analyse whether a corticosteroid therapy, administered in the form of a methyl-prednisolone bolus given prior to antibiotic treatment followed by sustained infusion for nine days, was able to modulate the inflammatory response and clinical outcome of selected hospital-admitted CAP patients presenting respiratory failure and extensive radiological consolidations.

Materials and methods

Setting, study design and subjects

This study was conducted at the Hospital Universitari de Bellvitge, a 900-bed hospital in Barcelona, Spain, which serves a population of about 1,100,000 people. The study was prospective, double-blind and randomized. Patients admitted to the hospital with CAP, and who met the selection criteria and agreed to participate in the study, were assigned to receive either placebo or methyl-prednisolone (MPDN) in combination with empirical antibiotic treatment.

CAP was diagnosed according to conventional criteria previously reported elsewhere [9]. Inclusion criteria were: 1) extensive radiological consolidations (completely affecting at least two lobes); and 2) respiratory failure (pO₂/FiO₂ <300). Exclusion criteria included: 1) age <18 years and >75 years; 2) no written informed consent available; 3) known hypersensitivity to steroids; 4) steroid treatment in the previous 48 h; 5) need for steroid treatment for any reason (asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and so on); 6) uncontrolled diabetes mellitus; 7) active peptic ulcer; 8) active mycobacterial or fungal infection; 9) reported severe immunosuppression; 10) hospital admission during the previous eight days; 11) empyema; 12) extrapulmonary septic manifestations; 13) presence of shock; 14) pre-mortem status; 15) aspiration pneumonia; and 16) need for mechanical ventilation (MV) prior to inclusion in the study.

The study was carried out in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983. Written informed consent was obtained in all cases from patients or their relatives. The study was approved by the Review Board Committee of our institution and by the Agencia Española del Medicamento (trial identification number AEM99/0145). The trial has also been inscribed in the International Standard Randomized Controlled Trials Register (ISRCTN22426306).

Interventions

We aimed to analyze the effect of a steroid treatment on the clinical course and outcome of CAP needing hospital admission, as well as on the profile of the host inflammatory response. For this propose we conducted a randomized, double blind, controlled trial. Patients who were placed on systemic steroid therapy were compared with those who received a placebo at the time of diagnosis. All patients received intravenous antibiotic treatment consisting of 1 g/day of ceftriaxone and 500 mg/day of levofloxacin. In addition, a bolus of 200 mg of MPDN or placebo was administered, 30 minutes before starting the antibiotic treatment. Thereafter, a maintenance intravenous dose (20 mg/6 h) was given for three days, then 20 mg/12 h for three days, and finally 20 mg/day for another three days. The placebo formulation was kindly provided by Sanofi-Aventis (Paris, France) and had a physical appearance similar to the corticosteroid drug. Omeprazole was administered to patients to minimize the side effects of steroids and, if necessary, insulin therapy was started to control blood glucose levels. Intravenous ceftriaxone was maintained for nine days. After five days, intravenous levofloxacin was sequentially switched to 500 mg by oral route for at least 20 days.

The main clinical variables were monitored during the first nine days of admission. The clinical course was assessed by the time to resolution of morbidity (TRM) score, a semi-quantitative score that combines clinical and radiological variables in order to determine the timing of improvement after inclusion [14]. In addition, chest X-ray, and routine venous blood tests (cell counting, biochemistry, C-reactive protein (CRP), and arterial blood gases analyses were obtained on days 1, 2, 3, 5 and 7 after entry. All patients were monitored one month after discharge. Radiological analysis and clinical follow-up were carried out by independent clinicians. The parameters used to calculate the TRM score, as well as the methodology for its application are described elsewhere [17].

The presence of respiratory failure requiring conventional MV or non-invasive positive pressure ventilation (NPPV) was selected as the primary outcome of the study. The secondary endpoint of this study was to assess the evidence of benefit in terms of an improved clinical course measured by pO₂/FiO₂ ratio, radiological improvement, TRM score, length of hospital stay, length of ICU stay, mortality and decreasing levels of systemic inflammatory response (IL-6, TNF- α , IL-8, IL-10 and CRP).

Microbiological studies

The investigation of pathogens in blood, normally sterile fluids, sputum, and other samples was performed by standard microbiological procedures. The *Streptococcus*

pneumoniae antigen in urine was detected by using a rapid immunochromatographic assay (Now™, Binax, Inc., Portland, ME, USA). *Legionella pneumophila* serogroup I antigen in urine was detected using an immunochromatographic method (NOW Legionella Urinary Antigen Test; Binax Inc.) or enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA-Bartels, Bartels, Trinity Biotech, Wicklow, Ireland). Standard serologic methods were used to determine antibodies against atypical agents. The criteria for classification of pneumonia (for example: definitive, probable) have been described elsewhere [18].

Study of the inflammatory response

In all cases, serial venous blood samples were obtained at entry, before initial treatment, and on days 1, 2, 3, 5 and 7 after inclusion. Circulating pro-inflammatory (TNF- α , IL-6, IL-8) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines were determined according to previously described methodology [9].

Sample size calculation

By using a two-tailed test and assuming a 90% follow-up, it was calculated that 56 episodes would be needed (28 in each group) to detect a difference of 15% in the need of mechanical ventilation between the control group and intervention group, the one treated with corticosteroids (80% power, 5% significance level).

Statistical analysis

The results of the comparative analysis of serial measurements (clinical variables, cytokine levels) and different scores (simplified acute physiology score (SAPS), radiological and clinical) at entry and after successive days on MPDN or placebo are expressed as median, interquartile range, first and third quartile. Significance levels were set at 0.05. Baseline data between the two therapeutic groups were compared by means of the non-parametric Mann-Whitney U test for continuous data, and by the Cochran-Mantel-Hansel chi square test for categorical data. The chi-square test and Kruskal-Wallis non-parametric tests were used to compare response groups. For 2×2 tables where any cell contained fewer than five observations, Fisher's exact two-tailed test for categorical data was used. Data for the primary and secondary end-points were analysed on intention-to-treat-analysis.

All statistical calculations were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (Version SPSS 15.01s) for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Results

Over a three-year period, 165 consecutive patients presenting with CAP and admitted to our institution were considered for inclusion into the study (Figure 1). After evaluation, a total of 56 episodes were randomly

assigned and included in an intention-to-treat-analysis. The baseline clinical and radiological characteristics of these cases are summarized in Table 1.

Data concerning the microbiological findings are summarized in Table 2. *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* were the most common aetiologies. No statistically significant differences in aetiology were observed between the two groups, although pneumococcal pneumonia was more frequent in the placebo group. A definitive etiological diagnosis was obtained in 25 (55.6%) cases and a presumptive diagnosis in 11 (24.4%) additional episodes. No etiological diagnosis could be made in nine (20%) cases.

The outcomes of patients are shown in Table 3. Patients included in the MPDN group show a more favourable evolution of the pO₂/FiO₂ ratio (Figure 2), faster decrease of fever, as well as higher radiological improvement at seven days ($P < 0.05$). The TRM was also significantly shorter in this group: median 5 days (interquartile range (IQR) 2 to 6) vs. 7 days (IQR 3 to 10), respectively. Six patients met the criteria for MV: five in the placebo group (22.7%) and one in the MPDN group (4.3%). NPPV was initially attempted in all these cases, but only proved successful in three (two in the placebo group and one in the MPDN group). Conventional MV was eventually required in three cases, all of them belonging to the placebo group. The duration of MV was 13 days (IQR 7 to 26 days) for the placebo group and 3 days for the only case in the MPDN group. The differences do not reach statistical significance. In the intention-to-treat analysis the comparison of all these variables in the two groups obtained similar results.

Three patients in each study group were admitted to the ICU within the first 24 h after hospital admission. Subsequently, another two patients from the placebo group and one in the MPDN group were transferred to ICU. Of these nine patients, three developed septic shock, two of them were from the placebo group. The duration of ICU stay tended to be longer in the placebo group compared to the MPDN group: 10.5 vs. 6.5 days. There were no significant differences in the general ward stay and the total length of hospital stay. No differences in mortality were found among groups.

In relation to the intensity of the inflammatory response, when comparing the evolution of cytokine levels between the two groups, IL-6 showed a significantly quicker decrease after 24 h of treatment among patients treated with MPDN (Table 4). In addition (Figure 3), the CRP ratio displayed a similar trend, reaching statistical significance ($P = 0.04$, Kruskal-Wallis one-way non-parametric test).

Complications related to the steroid treatment were minimal: among the 23 patients of the MPDN group, only one needed insulin for adequate diabetes control.

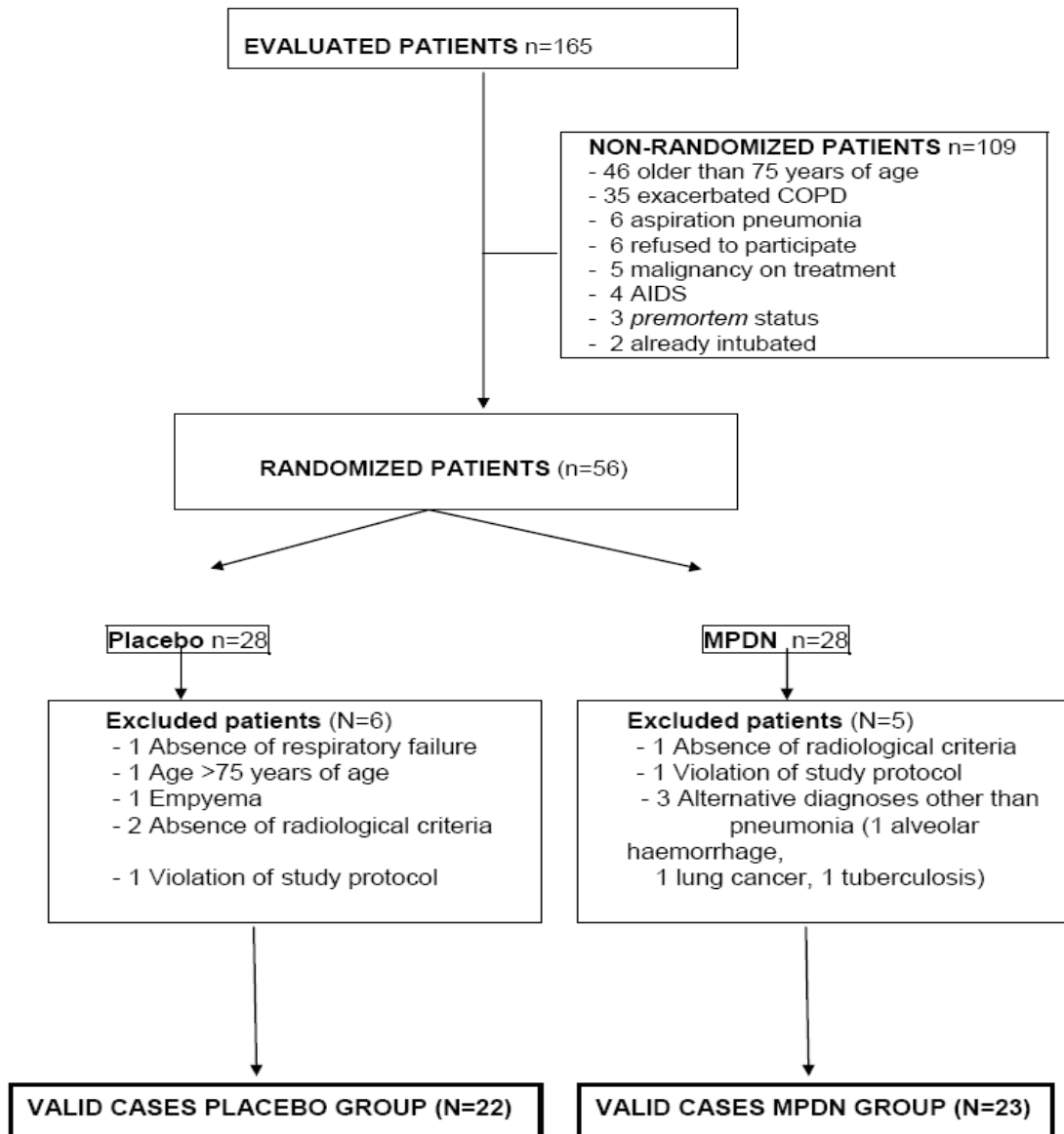


Figure 1 Selection of patients for the study.

Additionally, one patient suffered a digestive haemorrhage related to an active peptic ulcer 12 days after inclusion in the study (3 days after MPDN and omeprazole had been discontinued). The patient did well following a conservative approach.

Discussion

Few data have been published about the use of corticosteroids as an adjuvant anti-inflammatory treatment in CAP [14-16,19]. In order to demonstrate the hypothetical benefit of this strategy, we designed this prospective,

Table 1 Characteristics of valid cases (n = 45)

	Placebo	MPDN	P
N patients	22 (14 m/8 f)	23 (16 m/4 f)	ns
Age (years)	61 (48 to 66)	66 (49 to 70)	ns
Comorbidity conditions			
COPD	2	4	ns
Cardiovascular disease	2	4	ns
Diabetes mellitus	4	2	ns
Symptoms			
Fever >38.5°C	18	20	
Cough	14	18	ns
Breathlessness	17	16	ns
Expectoration	10	10	ns
Chest pain	10	11	ns
Chills	13	14	ns
Altered mental status	0	0	ns
Duration of symptoms (days)	5 (3 to 8)	5 (3 to 7)	ns
Clinical signs			
Temperature*	38.6 (38 to 39)	38.5 (37.6 to 39.5)	ns
Heart rate*	102 (96 to 125)	109 (100 to 120)	ns
Respiratory rate*	32 (30 to 40)	35 (30 to 38)	ns
Blood tests			
White cell × 10 ⁹ *	10.2 (7.4 to 13.5)	13.5 (11.4 to 15.6)	0.01
Urea (mmol/dl) *	7 (5 to 12)	9 (7 to 12)	ns
pO ₂ /FiO ₂ *	257 (209 to 276)	200 (233 to 236)	ns
Radiological findings			
Bilobar	11 (50%)	15 (65%)	ns
Multilobar	11 (50%)	8 (35%)	ns
Previous antibiotic treatment	5 (23%)	4 (17%)	ns
SAPS*	7 (6 to 12)	8 (5 to 12)	ns
Fine Score			
I	0 (0%)	0 (0%)	ns
II	3 (14%)	1 (4%)	ns
III	7 (32%)	6 (26%)	ns
IV	11 (50%)	14 (61%)	ns
V	1 (4%)	1 (4%)	ns

*median and interquartile range, ns: no statistical significance (*P* >0.05)
 MPDN: methyl-prednisolone. SAPS: Simplified acute physiology score.

double-blind, randomized study of patients with CAP and admitted because of: 1) large pulmonary consolidation; and 2) acute respiratory failure. Our results indicate that the administration of an adjuvant steroid therapy in combination with ceftriaxone plus levofloxacin significantly improved several clinical course variables such as the pO₂/FiO₂ ratio, the degree of radiological resolution and TRM score. In addition, some inflammatory markers such as IL-6 and CRP showed significantly lower blood concentrations and a more favourable time-course in the MPDN group.

Table 2 Causative organisms

Microorganisms	Placebo	MPDN	Total	P
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10 (45%)	5 (22%)	15	ns
Sputum	1			
Sputum + urinary antigen	1	1		
Urinary antigen	3	3		
Blood culture	1	1		
Sputum + blood culture+ urinary antigen	2			
Blood culture + urinary antigen	2			
<i>Legionella pneumophila</i>	5 (23%)	7 (30%)	12	ns
Sputum + urinary antigen	1			
Urinary antigen		3		
Sputum + serology	1			
Sputum + urinary antigen + serology		1		
Urinary antigen + serology		3		
Serology	3			
<i>Haemophilus influenzae</i>				
Sputum	1 (4%)	1 (4%)	2	ns
<i>Streptococcus viridans</i>				
Blood culture		1 (4%)	1	ns
Atypical pathogens (serology)			2	ns
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 (4%)	1 (4%)	2	ns
- <i>Chlamydia pneumoniae</i>		2 (9%)	2	ns
- <i>Chlamydia psittaci</i>	1 (4%)		1	ns
- <i>Coxiella burnetti</i>		1 (4%)	1	ns
No etiological diagnosis	4 (18%)	5 (22%)	9	ns

MPDN, methyl-prednisolone; (*) ns, no statistical significance.

Mechanical ventilation was needed in only one episode from the MPDN group compared with five cases in the control group, while the duration of ICU stay showed a clear trend in favour of the MPDN group. However, these differences did not reach statistical significance.

The need for MV was chosen as the major endpoint for this trial and was preferred over mortality, as it appears to be a more multi-factor variable than the development of severe respiratory failure. Sample size calculation was determined on the basis of the findings reported by a limited number of studies [20,21] and our own clinical experience. It would appear that the sample size is too small to confer statistical significance to the observed differences in this endpoint, but, were these differences to be maintained, a 50% larger sample size could be enough to achieve statistical significance. Nevertheless, the number of studied cases was enough to demonstrate significant differences in other relevant clinical variables, in particular the pO₂/FiO₂ ratio.

Some studies have previously evaluated the impact of corticosteroid treatment in the prognosis of patients with CAP. In 1993, Marik *et al.* [22] postulated that a low dose of hydrocortisone given prior to antibiotic therapy in ICU-admitted CAP patients could prevent

Table 3 Main outcome variables

	Placebo	MPDN	P
Need for mechanical ventilation			
Conventional mechanical ventilation (#)	3	0	ns
Non-invasive positive pressure ventilation (#)	2	1	ns
Mechanical ventilation total (#)	5	1	ns
Duration of mechanical ventilation (days):			
- Conventional * (#)	10 (13 to 19.5)	-	ns
- NPPV * (#)	16.5 (6 to 27)	3	ns
- Total * (#)	13 (7 to 26)	3	ns
ICU admission			
Duration of ICU stay, days (#)	5	4	ns
<24 hours (#)	10.5 (6.25 to 24.5)	6.5 (5.5 to 9)	ns
>24 hours (#)	3	3	ns
>24 hours (#)	2	1	ns
Development of shock (#)	2	1	ns
Mortality			
Early (≤ 9 days) (#)	-	1	ns
Late (>9 days) (#)	1	0	ns
General ward stay (#)			
	11.5 (9 to 14)	10 (9 to 13)	ns
Total hospital stay (#)			
	12 (9 to 18)	10 (9 to 13)	ns
Time to resolution of morbidity (#)			
	7 (3 to 10)	5 (2 to 6)	0.02

*median and interquartile range; ns: no statistical significance ($p > 0.05$).

(#) non-parametric Mann-Whitney U test.

(#) Fisher exact two-tailed test *median and interquartile range.

ICU, intensive care unit; MPDN, methyl-prednisolone; NPPV, non-invasive positive pressure ventilation.

the second wave of TNF- α release in the blood; however, the authors were unable to confirm this hypothesis and concluded that the hydrocortisone treatment had no effect on the serum TNF- α levels or on the clinical course of patients. In another study, Monton *et al.* [23] reported that a prolonged steroid treatment decreased systemic and lung inflammatory responses in patients with severe pneumonia, with a tendency to decrease

mortality. Confalonieri *et al.* [15] evaluated the effect of steroids on ICU-admitted CAP patients with respiratory failure or shock; they conducted a randomized, double-blind placebo-controlled trial and concluded that a seven-day course of low-dose hydrocortisone infusion was associated with a significant reduction in the duration of MV, length of hospital stay and hospital mortality. The inclusion criteria of patients, with more severe disease (all patients with ICU admission and 74% requiring mechanical ventilation) differed markedly from the current cohort. In this setting, Salluh *et al.* [24] reported that most patients with severe CAP admitted to the ICU had adrenal insufficiency caused by a dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Clearly, the presence of underlying adrenal insufficiency could explain the favourable results obtained among some of the patients with severe pneumonia. Our study, carried out in a less severe form of CAP also confirms a beneficial effect for corticosteroids in association with the antibiotic treatment. In another series, Garcia-Vidal *et al.* [19] also documented, in a retrospective observational analysis of 308 patients with CAP, that treatment with systemic steroids decreased mortality in the patients with severe CAP who received simultaneous administration of steroids. Very recently, another randomized and double-blinded study [16] comparing the efficacy of 40 mg of prednisone, in combination with the antibiotic treatment, given during seven days in a series of 213 patients

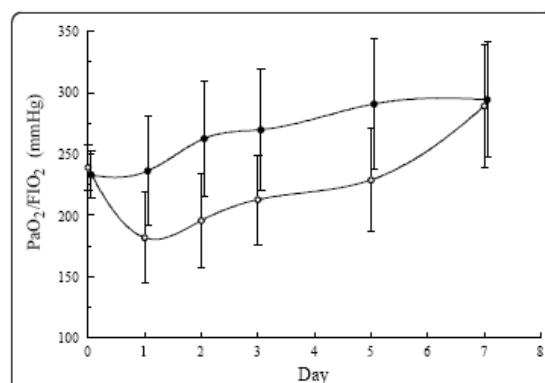


Figure 2 Comparative evolution of paO_2/FiO_2 ratio over the days of treatment and between the two study groups. Mean values with 96% Confidence Intervals. Open circles: Placebo. Closed circles: methyl-prednisolone (MPDN). Line: Clamp Spline Interpolation. ($P = 0.001$ Kruskal-Wallis one-way non-parametric test).

Table 4 Plasma cytokine concentrations (pg/ml)*

	Admission	Day 1	Day 2	Day 3	Day 5	Day 7	P (†)
IL-6							
Placebo	489.7 (83.5 to 2700)	219 (54 to 691)	77.5 (35.9 to 266.7)	48 (17.5 to 136)	37 (15.2 to 104.2)	23.9 (10.2 to 77.4)	$P = 0.0001$
MPDN	1060 (143.7 to 2594)	40.6 (20.8 to 132)	12.2 (0 to 36.4)	11.3 (0 to 34)	9 (0 to 23)	0.5 (0 to 23)	
IL-8							
Placebo	118 (28.1 to 253)	48.6 (19.9 to 196)	38.8 (16.1 to 92)	20.3 (12 to 103)	22.5 (9.5 to 66.9)	14 (0 to 55.2)	$P = 0.01$
MPDN	134 (68.2 to 226)	32.3 (19.5 to 75)	13.7 (7.4 to 35)	14.6 (5.8 to 24)	11.3 (6.2 to 23.8)	11 (0 to 53)	
IL-10							
Placebo	9.9 (0 to 62.2)	0 (0 to 11.2)	0 (0 to 4)	0 (0 to 5)	0 (0 to 3.7)	0 (0 to 2.7)	ns
MPDN	14.8 (0 to 35.2)	0 (0 to 6)	0 (0 to 5)	0 (0 to 0)	0 (0 to 0)	0 (0 to 0)	

* Median (pg/ml), interquartile range (first and third quartile).

(†) Kruskal-Wallis one-way non-parametric test ($P < 0.05$).

IL-6, interleukin-6; IL-8, interleukin-8; IL-10, interleukin-10; MPDN, methyl-prednisolone.

presenting CAP of different levels of severity, concluded that the corticoid treatment did not improve the outcome of the episodes. Nevertheless, in this study the percentage of severe episodes was lower than ours, the administered antibiotic regimen was not homogeneous, and the number of *Legionella* episodes was very low, with only one case receiving prednisone. At the end, these authors concluded that a benefit of corticosteroids in the more severe episodes cannot be excluded.

The dosage and duration of corticosteroid treatment is a matter for debate. In our study we decided to administer an initial bolus of MPDN followed by tapering for nine days; this is a similar schedule to that used in daily clinical practice when treating exacerbated COPD. In other series [22,23], hydrocortisone was preferred, but at variable dosages. The dosage and timing of administration is probably more important than the characteristics

of the chosen molecule. We incorporated the strategy of prescribing an initial MPDN bolus 30 minutes before the first dose of the antibiotic combination in order to interfere with the pro-inflammatory wave induced by sudden bacterial killing. Although it is possible that a lower dosage of corticosteroids could obtain a similar effect, we believe that the use of a higher dose may be justified until a favourable effect has been demonstrated.

The effects of steroids on the immune system are many and complex. Corticosteroids are known to reduce the production of the main inflammatory cytokines (TNF α , IL-1 β , IL-8, and IL-6), and the subsequent recruitment of inflammatory cells into the alveolar space leading to a more equilibrated response. Glucocorticoids inhibit cytokines and other inflammatory molecules stimulated by bacterial infections that could be harmful to the host. However, the use of steroids also exerts a decisive influence in the immune function of macrophages and granulocytes, the main cell host defences against bacteria [25-27]. In this context, it seems clear that advances in the knowledge of cytokines release and kinetics, gamma interferon and G-CSF, will permit a better understanding of the interaction between the endocrine and immune systems in respiratory infection and will make it possible to identify the subset of patients in whom steroids administration would be safe and effective.

Despite a number of strengths, our prospective, double-blind and randomized study has certain limitations that should be acknowledged. First, the study included a relatively small number of patients. Second, the strict exclusion criteria (such as >75 years, presence of severe immunosuppression, presence of shock, pre-mortem status, aspiration pneumonia or the need for MV prior to inclusion in the study) may explain the low mortality observed in our study. This reason precludes analysing the impact of the use of corticosteroids on mortality in these patients. Third, our conclusions apply only to a subset of patients with CAP and extensive radiological consolidations and/or respiratory failure. It should be noted that

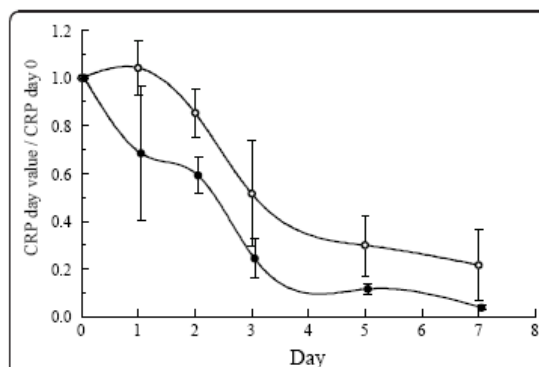


Figure 3 Comparative evolution of C-reactive protein ratio over the days of treatment and between the two study groups. The CPR ratio was calculated by dividing every day value by the CPR value at Day 0. Mean values with 95% confidence intervals. Open circles: Placebo. Closed Circles: methyl-prednisolone (MPDN). Line: Clamp Spline Interpolation. ($P = 0.05$ Kruskal-Wallis one-way non-parametric test).

there were several significant exclusion criteria, such as the need for steroid use for any reason (asthma, COPD, and so on), shock, and the need for MV prior to inclusion in the study among others. Finally, the administration of systemic steroids occurred at different times in the course of the disease. Timing of steroid administration might play a critical role because inflammatory response is a dynamic process and excessive modulation of any pathway could be the cause of an unwanted response.

Conclusions

The results provided by this double-blind, randomised trial of CAP patients admitted to a general hospital ward and presenting severe respiratory failure and extensive radiological consolidations support the hypothesis that an adjuvant steroid therapy decreases the inflammatory response, and seems to reduce the need for MV. This experience supports the need for larger studies in order to establish the usefulness of this therapeutic strategy in the different kinds of CAP.

Key messages

- In this prospective, double-blinded, randomized study comparing methylprednisolone (MPDN) to a placebo combined with ceftriaxone plus levofloxacin in severe CAP, MPDN administration was associated with improved oxygenation, faster decrease of fever and radiological improvement.
- MPDN administration was also associated with a faster reduction in blood IL-6 and CRP levels in the first 24 hours of treatment.

Abbreviations

CAP: community-acquired pneumonia; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; CRP: C-reactive protein; ICU: intensive care unit; ELISA: enzyme linked immunosorbent assay; FIO₂: fraction of inspired oxygen; G-CSF: granulocyte colony-stimulating factor; IL-6: interleukin-6; IL-8: interleukin-8; IL-10: interleukin-10; IQR: interquartile range; MPDN: methyl-prednisolone; MV: mechanical ventilation; NPPN: non-invasive positive pressure ventilation; PaO₂: partial pressure of oxygen; SAPS: simplified acute physiology score; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; TRM: time to resolution of morbidity.

Acknowledgements

This study was supported through a grant awarded by the Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) n° 99/0838 and partial funding from ISCIII RTC 03/11 (Red Respira). We are grateful to the patients and their relatives for agreeing to participate in this trial. We would like to thank Dr. Masuet and Dr. Ramon (USAR) for their help with the statistical analysis.

Author details

¹Respiratory Medicine Department, Hospital Universitari de Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, Feixa Llarga s/n, L'Hospitalet de Llobregat 08907, Barcelona, Spain. ²CIBER de Enfermedades Respiratorias ISCIII, Madrid, Spain (Spanish Network for the Research in Respiratory Diseases), Recinto Hospitalario Joan March, Carretera Sóller Km 12; 07110 Bunyola, Mallorca, Spain. ³Infectious Disease Department, Hospital Universitari de Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, Feixa Llarga s/n, L'Hospitalet de Llobregat 08907, Barcelona, Spain. ⁴REIPI (Spanish Network

for the Research in Infectious Diseases), Fundación Reina Mercedes, Edificio de los laboratorios 6a pl; Av. Manuel Siurot s/n; 41013 Sevilla, Spain. ⁵Immunology Department, Hospital Universitari de Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), University of Barcelona, Feixa Llarga s/n, L'Hospitalet de Llobregat 08907, Barcelona, Spain.

Authors' contributions

JD contributed to study concept and design. SF, JD, NF, AF and SP contributed to acquisition of data. SF, JD, CG, JC, FG and FM contributed to analysis and interpretation of data. JD, CG, JC, FG and FM contributed to drafting of the manuscript. SF, JD, CG, NF, JC, AF, MC, SP, FG and FM contributed to critical revision of the manuscript for important intellectual content. SF, NF and CG contributed to statistical analysis. JD obtained funding. SF, CG, AF, MC and SP contributed to administrative, technical, and material support. JD, FM, SF, JC, CG and FG contributed to study supervision.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 9 September 2010 Revised: 4 November 2010

Accepted: 15 March 2011 Published: 15 March 2011

References

1. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Niederman MS, Torres A, Whitney CG, Infectious Diseases Society of America, American Thoracic Society: Infectious disease society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the management of Community acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007, **44** Suppl 2: S27-S72.
2. File TM: Community-acquired pneumonia. *Lancet* 2003, **362**: 1991-2001.
3. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DE, Coley CM, Marrie TJ, Kapoor WN: A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997, **336**: 243-250.
4. Fine MJ, Smith MA, Carson CA, Mutha SS, Sankey SS, Weissfeld LA, Kapoor WN: Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *JAMA* 1996, **275**: 134-141.
5. Mortensen E, Coley C, Singer D, Marrie T, Obrosky S, Kappor W, Fine MJ: Causes of death for patients with community-acquired pneumonia: results from the Pneumonia Patient Outcomes Research Team Cohort Study. *Arch Intern Med* 2002, **162**: 1059-1064.
6. Rosón B, Carratalà J, Dorca J, Casanova A, Manresa F, Gudiol F: Etiology, reasons for hospitalization, risk classes, and outcomes of community-acquired pneumonia in patients hospitalized on the basis of conventional admission criteria. *Clin Infect Dis* 2001, **33**: 158-165.
7. Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé N, Carratalà J, Diaz V, Verdaguer R, Dorca J, Gudiol F: Early mortality in patients with community-acquired pneumonia: causes, and risk factors. *Eur Respir J* 2008, **32**: 733-739.
8. Austrian R, Gold J: Pneumococcal bacteremia with special reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med* 1964, **60**: 759-776.
9. Fernández-Serrano S, Dorca J, Coromines M, Carratalà J, Gudiol F, Manresa F: Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003, **10**: 813-820.
10. Padrones S, Garcia-Vidal C, Fernández-Serrano S, Fernández A, Masuet C, Carratalà J, Coromines M, Ardanuy C, Gudiol F, Manresa F, Dorca J: Impact of antibiotic therapy on systemic cytokine expression in pneumococcal pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010, **29**: 1243-1251.
11. Antunes G, Evans SA, Lordan JL, Frew AJ: Systemic cytokine levels in community-acquired pneumonia and their association with disease severity. *Eur Respir J* 2002, **20**: 990-995.
12. Monton C, Torres A, El-Ebiary M, Filella X, Xaubet A, de la Bellacasa JP: Cytokine expression in severe pneumonia: a bronchoalveolar lavage study. *Crit Care Med* 1999, **27**: 1745-1753.
13. Orqvist A, Hedlund J, Wretling B, Carlström A, Kalin M: Diagnostic and prognostic value of Interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired pneumonia. *Scand J Infect Dis* 1995, **27**: 457-462.
14. Salluh JI, Póvoa P, Soares M, Castro-Faria-Neto HC, Bozza FA, Bozza PT: The role of corticosteroids in severe community-acquired pneumonia: a systematic review. *Crit Care* 2008, **12**: R76.
15. Confalonieri M, Urbino R, Potena A, Piattella M, Parigi P, Puccio G, Della Porta R, Giorgio C, Blasi L, Umberger R, Meduri GU: Hydrocortisone

- infusion for severe community-acquired pneumonia: a preliminary randomized study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005, 171:242-248.
16. Snijders D, Daniels JMA, de Graaff CS, van der Werf TS, Boersman WG: Efficacy of corticosteroids in community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2010, 181:975-982.
 17. Daifuku R, Movahhed H, Fotheringham N, Bear MB, Nelson S: Time to resolution of morbidity: an endpoint for assessing the clinical cure of community-acquired pneumonia. *Respir Med* 1996, 90:587-592.
 18. Garcia-Vidal C, Carratalà J, Fernández-Sabé N, Dorca J, Verdagué R, Manresa F, Gudiol F: Aetiology of, and risk factors for, recurrent community-acquired pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection* 2009, 15:1033-1038.
 19. Garcia-Vidal C, Calbo E, Pascual V, Ferrer C, Quintana S, Garau J: Effects of systemic steroids in patients with severe community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2007, 30:951-956.
 20. Bozzette SA, Sattler FR, Chiu J, Wu AW, Gluckstein D, Kemper C, Bartok A, Niosi J, Abramson I, Coffman J, et al: A controlled trial of early adjunctive treatment with corticosteroids for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1990, 323:1451-1457.
 21. Torres A, Dorca J, Zalacain R, Bello S, El-Ebiary M, Molinos L, Arevalo M, Blanquer J, Celis L, Iriberrí M, Prats E, Fernández R, Irrigaray R, Serra J: Community-Acquired Pneumonia in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154:1456-1461.
 22. Marik P, Kraus P, Sribante J, Havlik I, Lipman J, Johnson D: Hydrocortisone and tumor necrosis factor in severe community-acquired pneumonia. *Chest* 1993, 104:389-392.
 23. Monton C, Ewing S, Torres A, El-Ebiary M, Filella X, Rano A, Xaubet A: Role of glucocorticoids on inflammatory response in nonimmunosuppressed patients with pneumonia: a pilot study. *Eur Respir J* 1999, 14:218-220.
 24. Salluh J, Shinotsuka CR, Soares M, Bozza FA, Lapae Silva JR, Tura BR, Bozza PT, Garcia-Vidal C: Cortisol levels and adrenal response in severe community-acquired pneumonia: A systematic review of the literature. *J Crit Care* 2010, 25:541.
 25. Dehoux MS, Boutten A, Ostinelli J, Seta N, Dombret MC, Crestani B, Deschenes M, Trouillet JL, Aubier M: Compartmentalized cytokine production within the human lung in unilateral pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994, 150:710-716.
 26. Boutten A, Dehoux MS, Seta N, Ostinelli J, Venembre P, Crestani B, Dombret MC, Durand G, Aubier M: Compartmentalized IL-8 and elastase release within the human lung in unilateral pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 153:336-342.
 27. Raño A, Agustí C, Sibila O, Torres A: Associated inflammatory response in pneumonia: role of adjunctive therapy with glucocorticoids. *Curr Opin Infect Dis* 2006, 19:179-184.

doi:10.1186/cc10103

Cite this article as: Fernández-Serrano et al: Effect of corticosteroids on the clinical course of community-acquired pneumonia: a randomized controlled trial. *Critical Care* 2011 15:R96.

Ponencias a Congresos

1. "Respuesta inflamatoria en las infecciones del tracto respiratorio Inferior"
XXXVI Congreso Nacional de la Sociedad de Neumología y Cirugía
Torácica. Zaragoza Junio 2003.

Comunicaciones a Congresos

1. "Molecular inflammatory response in severe community acquired pneumonia". S. Fernández, Dorca J, Manresa F, Corominas M. Pneumology, Infectious Diseases and Immunology Departments. Hospital de Bellvitge. Universitat de Barcelona. ATS International Conference Toronto 2000.
2. "Perfil de la respuesta inflamatoria molecular en la neumonía comunitaria grave. Diferencias según etiología". S. Fernández, J. Pascual, A. Lérída, J. Dorca, M. Corominas, F. Manresa. Serveis de Pneumologia, Immunologia i Malalties Infeccioses. Hospital de Bellvitge. Universitat de Barcelona. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) Bilbao 2000.
3. "Molecular inflammatory response in severe community acquired pneumonia". S. Fernández, Pascual J, Dorca J, Manresa F, Gudiol F, Corominas M. Pneumology, Infectious Diseases and Immunology Departments. Hospital de Bellvitge. Universitat de Barcelona. European Respiratory Congress. Florencia 2000.
4. "Molecular inflammatory response in severe community acquired pneumonia". S. Fernández, Pascual J, Dorca J, Manresa F, Gudiol F, Corominas M. European respiratory Congress. Viena 2003.

5. "Effect of corticoids on the clinical course and outcome of severe community-acquired pneumonia". Fernandez S, Dorca J, Padrones S, Fernández-Agüera A, Gudiol F and Manresa F. European Respiratory Congress. Glasgow 2004.

ÍNDICE

1. Justificación del estudio	45
2. Introducción	
2.1. Epidemiología.....	51
2.2. Etiología.....	53
2.3. Estimación de la gravedad.....	56
2.4. Técnicas diagnósticas.....	62
2.5. Tratamiento antibiótico.....	66
3. Respuesta inflamatoria en la neumonía adquirida en la comunidad (NAC).	
3.1. Mecanismos de respuesta inflamatoria en la NAC.....	71
3.2. Respuesta inflamatoria según etiología.....	87
3.3. Interacción de los antibióticos en la respuesta inflamatoria.....	95
3.4. Terapia antiinflamatoria.....	99
4. Hipótesis	117
5. Objetivos de la tesis	121
6. Resultados:	
1. Estudio 1.....	125
2. Estudio 2.....	127
3. Estudio 3.....	129
7. Discusión	133
8. Conclusiones	145
9. Bibliografía	149

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

Entre los años 1994 y 1997 me formé como neumóloga en el Servicio de Neumología del Hospital Universitario de Bellvitge. Desde el año 1984 se había desarrollado en dicho servicio una línea de investigación en patología infecciosa respiratoria, encaminada principalmente al diagnóstico de la neumonía comunitaria y dirigida por el Dr. Jordi Dorca en colaboración con el Servicio de Enfermedades Infecciosas. La existencia de este grupo de investigación de reconocida reputación científica, facilitó que ya durante mi formación como residente me interesase por esta patología, iniciando al final de mi residencia el trabajo de investigación que ha motivado esta tesis.

Esta tesis se originó como un trabajo de investigación dirigido a la aplicación en la práctica clínica. Desde hacía años, en el Hospital de Bellvitge los pacientes que ingresaban por neumonía adquirida en la comunidad eran atendidos de manera multidisciplinar, con la participación de los Servicios de Neumología, Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Los resultados de los estudios publicados en la literatura médica y nuestra propia experiencia en el manejo de la neumonía adquirida en la comunidad, evidenciaban que esta patología seguía constituyendo una enfermedad potencialmente grave que con frecuencia presentaba una evolución desfavorable a pesar del tratamiento adecuado de la enfermedad. En esos casos, todos los intentos terapéuticos para evitar la mala evolución del paciente resultaban infructuosos.

En el momento en el que se diseñó el trabajo, ya algunos clínicos contemplaban los corticoides como un tratamiento adyuvante empírico en los

casos que presentaban una mala evolución clínica. En general, se trataban de neumonías con afectación radiológica extensa e insuficiencia respiratoria. Esta decisión terapéutica se basaba principalmente, en la impresión clínica de que en estos pacientes se producía una respuesta inflamatoria excesiva que extendía la afectación pulmonar. No obstante, la utilización de los corticoides era un tema controvertido, ya que la experiencia previa en la sepsis no había aportado beneficios^{1,2}. Por otra parte, se temía el efecto nocivo de su acción inmunosupresora en el desarrollo de la infección. Sin embargo, sí habían resultado útiles en otras infecciones como la neumonía por *P. jirovecii* o en el síndrome del distrés respiratorio del adulto (SDRA)^{3,4}.

Teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, diseñamos un ensayo randomizado, placebo vs metilprednisolona, dirigido a estudiar el efecto de los corticoides en el pronóstico de la neumonía. Con la intención de obtener datos objetivos sobre el efecto de los corticoides sobre la respuesta inflamatoria, incluimos en el estudio la determinación seriada de citocinas en suero. A diferencia de otros autores que habían optado por evaluar estos mediadores en el BAL⁵⁻⁸, optamos por realizar su estudio en suero, dada la dificultad de realizar aquella exploración en un paciente no intubado con insuficiencia respiratoria y el riesgo de complicaciones del procedimiento (fiebre y empeoramiento de la insuficiencia respiratoria).

En los últimos años, se habían publicado distintos estudios que relacionaban un exceso de respuesta inflamatoria con la sepsis y el SDRA, pero sólo algunos de ellos incluían pacientes con neumonía comunitaria^{7,9}. Los datos

de estos estudios sugerían una compartimentalización de la respuesta inflamatoria en el pulmón^{5,6}, lo que podía dificultar la detección de citocinas en sangre. Por tanto, uno de los objetivos de la tesis fue dilucidar si era posible la monitorización de la respuesta inflamatoria a partir de la evaluación de los mediadores inflamatorios en el suero del paciente. Para ello era necesario aclarar qué citocinas podrían ser detectadas en el suero de los pacientes con NAC, y entre ellas, cuáles serían las más representativas de la respuesta inflamatoria en dicha patología.

De ser posible la monitorización de la respuesta inflamatoria a partir de la evaluación de las citocinas en suero, nos planteábamos demostrar aquello que la experiencia clínica nos sugería, la asociación entre una respuesta inflamatoria excesiva y el mal pronóstico en los casos más graves de neumonía adquirida en la comunidad, así como investigar sobre su aplicación clínica. Por ello, uno de los objetivos fue comparar el perfil de dicha respuesta según el patógeno causal y evaluar el eventual efecto inmunomodulador del tratamiento antibiótico sobre la respuesta inflamatoria. En el mismo sentido, y como se ha mencionado anteriormente, el objetivo principal de nuestro trabajo fue estudiar el efecto de los corticoides en la modulación de la respuesta inflamatoria y en el curso clínico de la neumonía.

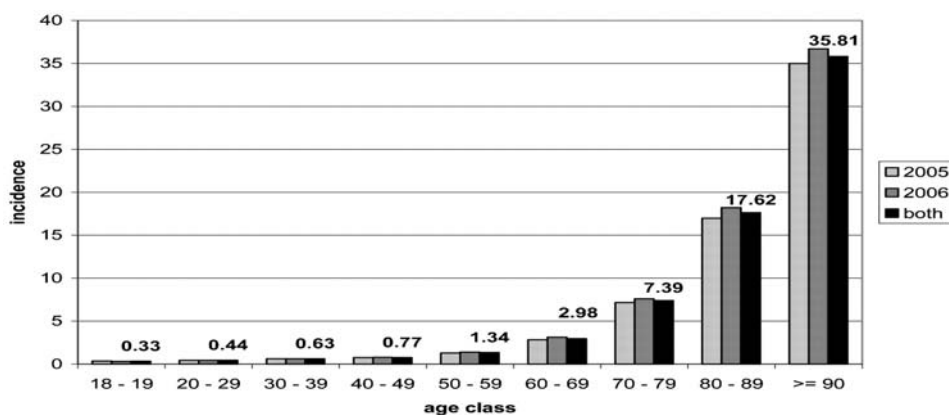
Por todo lo expuesto, tanto el diseño como el desarrollo de nuestra investigación han ido encaminados a mejorar en lo posible el conocimiento y el manejo de la neumonía adquirida en la comunidad grave.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. EPIDEMIOLOGÍA.

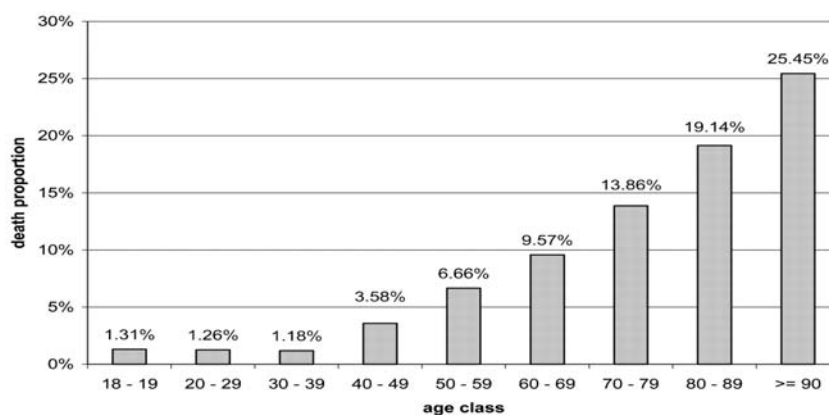
La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) continúa siendo en la actualidad una enfermedad muy frecuente y con una elevada morbi-mortalidad¹⁰. En Estados Unidos, se ha reportado una incidencia anual de NAC de 15 episodios por cada 1.000 habitantes/año en estudios basados en datos del “CDC-National Center Health Statistics (2006)”¹¹. Esta incidencia es menor en los estudios poblacionales europeos: 5 por cada 1.000 hab entre 15-79 años en Inglaterra y 9 por cada 1.000 hab mayores de 14 años en Finlandia¹². En España, en un estudio retrospectivo en pacientes hospitalizados por NAC, y en el que los datos fueron obtenidos a través del sistema nacional de vigilancia, se halló una incidencia de 160 casos por 100000 hab/año¹³, siendo de 523 por 100000 hab/año en mayores de 65 años. En un estudio prospectivo llevado a cabo en Catalunya (Maresme), también en pacientes hospitalizados, la incidencia anual de la NAC fue de 1.62 casos por 1000 habitantes, incrementándose por grupos de edad desde 1.12 a 3.16¹².

Fig1. Incidencia media de la NAC hospitalizada por 1000 habitantes según grupos de edad¹⁴.



Respecto a la morbimortalidad atribuida a la NAC, esta sigue siendo la causa más frecuente de mortalidad de causa infecciosa en los países desarrollados¹⁰. A pesar de los avances en la terapia antimicrobiana, las tasas de mortalidad debido a neumonía no han disminuido significativamente. Según un metaanálisis en el que se revisó la literatura publicada respecto al pronóstico de la NAC, la mortalidad de dicha patología oscilaría entre el 1 y el 5% en los pacientes ambulatorios, el 13.7% en los pacientes hospitalizados y el 36.5% en aquellos que requieren ingreso en una unidad de cuidados intensivos¹⁵. En España, la mortalidad anual estimada en pacientes hospitalizados por NAC es de 12 muertes por 100.000 habitantes y aumenta hasta 61 muertes per 100.000 habitantes en enfermos con edad igual o superior a 65 años¹³. En el estudio de Almirall (Cataluña), la mortalidad media fue del 5%³.

Fig2. Distribución de las proporciones de muerte intrahospitalaria de pacientes con NAC según grupos de edad (población total en los años 2005 y 2006)¹⁴.



2.2. ETIOLOGÍA.

La NAC es una infección que se desarrolla en el ámbito extrahospitalario o durante las primeras 48 horas del ingreso en un hospital. Sin embargo, se ha de destacar las características diferenciales en cuanto a la etiología en la neumonía asociada a cuidados de la salud (*healthcare-associated pneumonia*, HCAP) que afecta a pacientes procedentes de residencias geriátricas o de centros de larga estancia, así como a aquellos individuos en contacto frecuente con el sistema de salud (dialisis, terapia endovenosa domiciliaria, hospitalización reciente). En estos pacientes, se ha descrito un aumento de resistencias bacterianas de patógenos usuales en la NAC, como sería el caso del *S.pneumoniae*, y un incremento de riesgo de infección por gérmenes usualmente asociados a infecciones hospitalarias, como *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Staphylococcus aureus* meticilin resistentes (MARSAs). Por tanto, se recomienda tratar la neumonía en este grupo de pacientes según normativas diferenciadas recientemente elaboradas y dirigidas a la HCAP^{10,16,17}.

Durante las últimas décadas, diferentes trabajos han aportado datos sobre los patógenos más frecuentes en la NAC¹⁸⁻²². Así, es bien conocido que un amplio número de patógenos pueden causar esta patología, pero que únicamente un número limitado de ellos serán responsables de la mayoría de casos. En la tabla 1 se muestra una lista de los agentes causales más comunes, estratificada según el ámbito en el que el paciente debe ser tratado: ambulatorio o hospitalario, siendo este fundamentalmente determinado por la gravedad de la enfermedad.

Tabla 1. Distribución de las etiologías más comunes en la NAC (*modificado de Marrie y cols)¹⁸

Microorganismo	Comunidad, %	Hospital, %	UCI, %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14	25	17
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	16	6	
Virus	15	10	4
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	12	3	
<i>Legionella</i> sp.	2	3	10
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	5	3
Bacilos gramnegativos			5
<i>Staphylococcus aureus</i>			5
No identificada	44	37	41

El *S.pneumoniae* es el agente causal más frecuente de NAC^{23,24} y se ha identificado como causa frecuente de complicación en los casos severos y fatales del H1N1 del 2009²⁵. La existencia de determinados datos clínicos y epidemiológicos sugieren la presencia de ciertos patógenos. Bacterias como *H.influenzae* no tipificable y *Moraxella catarrhalis*, son más frecuentes en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica subyacente. El *S. aureus* es causa de NAC especialmente durante la epidemia de gripe. Por otro lado, la administración crónica de corticoides sistémicos, la existencia de enfermedad broncopulmonar severa subyacente, el alcoholismo y las pautas frecuentes de antibioterapia constituyen factores de riesgo para la NAC causada por *P. aeruginosa* y enterobacterias¹⁰. En una cohorte de 3.272 pacientes con NAC hospitalizados, el antecedente de EPOC, tabaquismo activo, frecuencia respiratoria ≥ 30 rpm y shock séptico en el momento del ingreso se asociaron a etiología por bacilos gram negativos. En estos pacientes la estancia hospitalaria fue más prolongada y la mortalidad más elevada²⁶.

Las “bacterias atípicas”, denominadas así debido a que no son detectables en la tinción de Gram ni en los medios de cultivo bacteriano estándar, son causa común de neumonía e incluyen *M. pneumoniae*, *C.*

pneumoniae y *Legionella species*. En la práctica clínica, estos microorganismos con frecuencia no son identificados, porque a excepción de la legionella, no existen tests diagnósticos rápidos y estandarizados¹⁰, y su diagnóstico definitivo se basa en técnicas serológicas.

En relación a la etiología vírica, el virus influenza continúa siendo el agente vírico más frecuente en la neumonía. Entre otros virus que causan asimismo NAC en los adultos se incluye: virus sincitial respiratorio (VSR), adenovirus, parainfluenzae virus, y menos frecuentemente, metaneumovirus humano, herpes simple, varicela zoster, coronavirus asociado a SARS y virus del sarampión. En un estudio reciente, realizado en adultos inmunocompetentes que requirieron hospitalización, en 18% de los episodios había evidencia de etiología vírica y en un 8% un virus respiratorio fue el único patógeno identificado²⁷. En los pacientes ambulatorios la tasa aumenta al 36%²⁸. En abril del 2009, una epidemia de H1N1 influenza infectó a aproximadamente 61 millones de personas y se reportó una mortalidad de 13.000 pacientes aproximadamente. H1N1, en contraste con la gripe estacional, afectó más a la población joven. The “Centers for Disease and Prevention” estimaron que 90% de las hospitalizaciones y 87% de las muertes estimadas ocurrieron en individuos con edad inferior a 65 años²⁵.

Por último, entre los microorganismos causales menos comunes (2-3%) se encuentran *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetti*, *Francisella tularensis*, *Bordetella pertussis* y hongos endémicos con una incidencia determinada por el contexto epidemiológico^{19,26}.

2.3. ESTIMACIÓN DE LA GRAVEDAD.

2.3.1. Escalas de gravedad

Dado que la NAC presenta una mortalidad elevada, es clave la valoración inicial de la severidad en el manejo del paciente con NAC así como la elección de la ubicación más apropiada para su tratamiento: ambulatorio, hospitalización o unidad de cuidados intensivos (UCI). El ingreso hospitalario innecesario comporta un coste económico muy superior respecto al manejo ambulatorio y un mayor riesgo de complicaciones médicas, entre ellas tromboembolismo pulmonar y sobreinfecciones por patógenos resistentes. Por el contrario, un retraso en la identificación de la gravedad se asocia a un retraso en el inicio del tratamiento y a un incremento de la mortalidad³⁰. La evaluación inicial de la gravedad del paciente depende del juicio clínico del médico responsable. Con frecuencia los profesionales sobrevaloran la gravedad del cuadro y tienden a ingresar a pacientes con bajo riesgo de mortalidad. Por otro lado, se ha reportado una variabilidad significativa entre diferentes profesionales y hospitales³¹. En un intento de resolver estos problemas, se han desarrollado varias escalas de gravedad con el objetivo de determinar el riesgo de mortalidad siendo las más utilizadas el "Pneumonia Severity Index" (PSI)³² (tabla 2) y el CURB-65³³ (tabla 3). En 1997, Fine y colaboradores desarrollaron el PSI a partir de una base de datos de 17.199 pacientes con NAC hospitalizados en 78 hospitales y utilizaron una base de datos de Medicare con 38.039 pacientes para validar el PSI. También fue validado en la cohorte del estudio PORT de 2287 adultos. Su objetivo era identificar pacientes con bajo riesgo de mortalidad que pudieran ser dados de alta hospitalaria y atendidos en su domicilio^{31,32}. El CURB-

65 es una modificación de los criterios de la “British Thoracic Society” desarrollado en un estudio prospectivo de 1068 pacientes con NAC en tres países: Reino Unido, Nueva Zelanda y Holanda³³.

Tabla 2. Sistema de puntuación “Pneumonia severity index” (PSI). Estratificación de los pacientes con NAC en grupos de riesgo según la mortalidad a los 30 días³².

Escala de Fine	Puntuación
Edad	
Hombres	Edad (años)
Mujeres	Edad (años-10)
Residencia geriátrica	+10
Comorbilidad	
Neoplasia	+30
Hepatopatía	+20
Insuficiencia cardíaca	+10
Enfermedad cerebrovascular	+10
Enfermedad renal	+10
Examen físico	
Alteración estado mental	+20
FR≥30 rpm	+20
PAS<90 mmHg	+20
T ^a <35° o ≥40°C	+15
FC≥125 lpm	+10
Laboratorio/Radiología	
pH<7.5	+30
BUN>30 mg/dl	+20
Na<130 mmol/l	+20
Glucosa>250 mg/dl	+10
Hematocrito>30%	+10
pO ₂ <60 mmHg	+10
Derrame pleural	+10

Clase de riesgo	Mortalidad (30 días) (%)
Clase I Si < 50 años, sin comorbilidad y examen físico normal	0.1
Clase II <70 puntos	0.6
Clase III 71-90 puntos	0.9-2.8
Clase IV 91-130 puntos	8.2-9.3
Clase V >130 puntos	27-29.2

Tabla 3. Sistema de puntuación “CURB-65”. Estratificación de los pacientes con NAC en grupos de riesgo según la mortalidad a los 30 días³³.

Curb 65	Puntuación	Grupos de riesgo	Mortalidad (30 días) (%)
Confusión	+1	1 (0-1 puntos)	<3
Urea >7mmol/l	+1		
FR>30 rpm	+1	2 (2 puntos)	9.2
PAS<90 o PAD<60mmHg	+1		
Edad>65 años	+1		
		3 (3 o más puntos)	31

El mismo grupo desarrolló una variante reducida del CURB-65, el CRB-65 que eliminó la variable “urea” y que permite la valoración del paciente a nivel ambulatorio. Según estas escalas de gravedad, se aconseja tratamiento ambulatorio en las clases I-II del PSI, salvo que exista hipoxemia, observación en unidad de corta estancia en la clase III e ingreso hospitalario en las clases IV-V. Se recomienda el ingreso hospitalario cuando la puntuación del CURB es mayor a 1, sobretodo si existen factores asociados a gravedad como la hipoxemia o la afectación multilobar. El CRB-65 puntua cada variable con un punto y se aconseja remitir al paciente al hospital en caso de puntuación ≥ 1 .

Varios estudios han comparado las escalas PSI y CURB-65, concluyendo los autores que no hay diferencias entre ellas para discriminar los pacientes con riesgo de mortalidad a los 30 días^{34,35}. Sin embargo, ambas escalas muestran algunas limitaciones. En algunos casos, el PSI puede infravalorar la gravedad de la neumonía, especialmente en pacientes jóvenes de sexo femenino sin enfermedades subyacentes, debido al peso asignado a la edad y a la comorbilidad en la escala de puntuación. Por el contrario, puede sobreestimar la severidad en pacientes de edad avanzada o con comorbilidades. Además, se trata de una escala de riesgo de mortalidad, no de severidad de la neumonía. Por otro lado, el CURB-65 tiene el inconveniente de no haber sido validada en mayores de 65 años, hecho que limita su utilización en esta población y no incluye la saturación de oxígeno en la valoración, variable que puede determinar en caso de estar alterada el ingreso hospitalario para la administración de oxigenoterapia.

Como se ha comentado anteriormente, el retraso en la identificación de la gravedad y en el inicio del tratamiento se asocia a incremento de la mortalidad. Los resultados de dos estudios sugirieron que un diagnóstico y un tratamiento antibiótico precoces se asociaba a mayor supervivencia y menor estancia hospitalaria^{36,37}. Por ello, como recomendación global importante, en todas las guías se aconseja iniciar la primera dosis de antibiótico en las primeras 4-8 horas de tratamiento. Por otro lado, Restrepo y colaboradores estudiaron un grupo de pacientes inicialmente ingresados en la planta que posteriormente requirieron traslado a la UCI por empeoramiento clínico. Los pacientes que ingresaron en la UCI después de haber sido inicialmente ingresados en la planta presentaron peor pronóstico, incluyendo mortalidad a los 30 días, en relación a aquellos ingresados directamente en la UCI desde el servicio de urgencias³⁸. Resultados similares fueron obtenidos en un estudio de Singapur³⁹. La mortalidad fue superior en los pacientes ingresados en la planta (72.7%) respecto a los ingresados en la UCI inicialmente (33%). Con el objetivo de predecir qué pacientes deben ser trasladados directamente a una UCI, la *American Thoracic Society* y la *Infectious Diseases Society of American* han elaborado una nueva escala de gravedad que incluye 2 criterios mayores: ventilación mecánica y shock séptico que requiere tratamiento con fármacos vasopresores y 8 criterios menores (en estos se incluyen los criterios menores de la ATS y las variables del CURB): frecuencia respiratoria >30 rpm, PaO₂/FiO₂<250, infiltrado multilobar, confusión/desorientación, uremia>20mg/dl, leucopenia (<4000 leucos/mm³), trombopenia (<100.000 plaquetas/ mm³), hipotermia (T^a<36°C) e hipotensión que requiera fluidoterapia agresiva. La presencia de un criterio mayor o al menos tres criterios menores indicarán la necesidad de ingreso en una UCI o en unidades

de alto nivel de monitorización¹⁰. Recientemente se han desarrollado otras escalas de gravedad que podrían justificar el tratamiento en la UCI, entre ellas la escala SMART-COP⁴⁰, enfocada únicamente a la predicción de soporte ventilatorio o vasopresor intensivo, y la “Severity Community Acquired Pneumonia” (SCAP)⁴¹ dirigida a predecir la mortalidad durante el ingreso hospitalario, la necesidad de ventilación mecánica o la aparición de shock séptico. En la actualidad, ambas escalas precisan ser validadas en diferentes cohortes.

2.3.2. Marcadores biológicos de inflamación

Además de las escalas de gravedad antes mencionadas, varios biomarcadores relacionados con la inflamación en la NAC como la procalcitonina (PCT), la proteína C reactiva (PCR) y el pro-adrenomedulina, han sido evaluados como variables predictoras de la respuesta del huésped y del pronóstico de la NAC grave. Los niveles elevados de pro-adrenomedulina, copeptina, péptidos natriuréticos, cortisol, péptido pro-atrial natriurético y marcadores de coagulación (dímero-D) han sido relacionados con la mortalidad en la NAC. Los dos biomarcadores disponibles en la práctica clínica son la PCR y la PCT. Ambos son reactantes de fase aguda, con niveles circulantes bajos que aumentan con la inflamación, especialmente bacteriana.

La PCT es un péptido precursor de la hormona calcitonina que es liberado en respuesta a las toxinas bacterianas, de manera que presenta niveles elevados en las infecciones bacterianas y niveles bajos en las infecciones víricas⁴². Muller y colaboradores en un estudio prospectivo en 925 pacientes con

NAC hallaron que los niveles de PCT predecían la existencia de bacteriemia. Según los resultados de este trabajo, la determinación de la PCT podría disminuir la realización de hemocultivos en pacientes con bajo riesgo de bacteriemia, con la consiguiente reducción del gasto económico⁴³. Otros estudios han relacionado los niveles de PCT con la severidad de la neumonía. Pacientes con un elevado PSI o que evolucionaron desfavorablemente mostraron niveles más elevados de PCT⁴⁴. En el estudio CAPNETZ la PCT mostró un potencial predictivo de severidad similar al CURB-65⁴⁵. Los no supervivientes mostraron niveles más elevados que los supervivientes (1.2 vs 0.3 mmol/l, p=0.0001) y los niveles bajos de PCT predijeron bajo riesgo de mortalidad incluso en los pacientes con un CURB-65 elevado.

La PCR es un reactante de fase aguda sintetizado por el hígado en respuesta a la IL-6, que se produce en situaciones de inflamación e infección. La medición de los niveles de PCR es utilizada en el diagnóstico de infecciones bacterianas. Almirall y colaboradores mostraron que los niveles elevados son más frecuentes en las NAC causadas por *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* así como en los episodios más graves⁴⁶. Por otro lado, niveles persistentemente elevados de PCR sugieren fracaso terapéutico o complicaciones⁴⁷. En resumen, conjuntamente con la clínica los biomarcadores podrían ser útiles en la evaluación de la gravedad de la NAC y en la diferenciación con otras patologías como el edema pulmonar o la exacerbación de la EPOC. También sería de utilidad la medición seriada para evaluar la respuesta terapéutica. No obstante, son precisos más estudios que avalen estas aplicaciones.

2.4. TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS.

La mortalidad de la NAC también se ve incrementada, así como el riesgo de fallo terapéutico, cuando el tratamiento antibiótico es inadecuado^{48,49}. En este sentido, un diagnóstico microbiológico rápido y fiable es esencial para instaurar un tratamiento antibiótico inicial adecuado y reducir el riesgo de mortalidad de la NAC. Sin embargo, la baja rentabilidad, se establece un diagnóstico causal sólo en un 50% de los casos¹⁰, y el escaso impacto sobre el curso clínico en los casos más leves son argumentos a favor de no realizar tests microbiológicos como los hemocultivos o los cultivos de esputo en todos los casos. El diagnóstico etiológico se considera necesario en la NAC grave y en los episodios en los que su conocimiento puede implicar una modificación del tratamiento, mientras que es opcional en los casos de NAC tratados ambulatoriamente. En concreto, en los pacientes hospitalizados se debe realizar hemocultivos, gram y cultivo de esputo y determinación de antígenos urinarios de neumococo y *L. pneumophila*. En los casos que requieren ingreso en la UCI e intubación orotraqueal se debe obtener muestra respiratoria mediante aspirado traqueal o broncoscopia⁵⁰.

El análisis del esputo es la técnica microbiológica más utilizada en la NAC, debido a que la muestra es fácil de obtener y el diagnóstico está estandarizado, aunque también la más problemática en su interpretación. El gram de esputo, en conjunción con el cultivo de esputo, ayuda a identificar determinados patógenos como *S. pneumoniae*, *S.aureus* y bacterias gram negativas. Para que una muestra de esputo sea adecuada para su cultivo debe mostrar > 25 neutrófilos y < 10 células escamosas por campo a bajo aumento.

Varios estudios han evaluado su utilidad en la detección del *S. pneumoniae* y han reportado una sensibilidad del 50-70% y una especificidad del 79-100%^{51,52}. En el estudio de Rosón, la sensibilidad del gram de esputo para el diagnóstico de neumonía bacteriémica fue del 34% con una especificidad del 100% y el hallazgo de cocobacilos gram-negativo en el gram de esputo mostró asimismo una especificidad del 100% para *H. Influenzae*⁵¹.

En la actualidad, el uso de técnicas broncoscópicas, que incluyen el cultivo cuantitativo del lavado broncoalveolar o del catéter telescópado, se restringe a la neumonía asociada al ventilador. Rara vez son indicadas en el manejo de la NAC, en buena parte porque no han demostrado ser mejores en la detección de los patógenos. No obstante, deben ser consideradas en pacientes con NAC severa y en aquellos con sospecha de *P. carinii* o de *M. tuberculosis*.

El test de detección del antígeno neumococo en orina ha constituido un avance importante en el diagnóstico de este patógeno, tanto por la fácil obtención de la muestra, como por su rentabilidad y su capacidad de establecer el diagnóstico, incluso después de haberse iniciado el tratamiento antibiótico. Se puede utilizar la contrainmunolectroforesis (CIE) que detecta el polisacárido capsular y la inmunocromatografía que identifica el polisacárido C. Un ensayo controlado mostró resultados positivos en 88 (82%) de 107 adultos con neumonía neumocócica bacteriémica y falsos positivos en sólo 3 (3%) de 106 adultos con septicemia por otros patógenos⁵³. Este estudio mostró una sensibilidad del 82% y una especificidad del 97%. Otros estudios han mostrado resultados similares^{54,55}. Las limitaciones de esta técnica son la menor sensibilidad y especificidad en niños y en adultos con neumonía no

bacteriémica⁵⁵. Por otro lado, en pacientes con colonización bronquial como ocurre en la EPOC o en niños menores de 2 años, puede detectarse polisacárido C en orina sin que sea el neumococo el agente causal de la neumonía, por ello en estos pacientes se recomienda realizar contraelectroforesis (CIE)⁵⁰. Además, debe considerarse la excreción de antígeno urinario asociado a episodios anteriores de neumonía o exacerbación de EPOC. También se ha desarrollado un test urinario para la detección de antígeno de *L. pneumophila* en orina que se ha convertido en el método diagnóstico de referencia. Helbig y colaboradores encontraron una sensibilidad superior al 80% en pacientes con neumonía por *L. pneumophila* y cultivo positivo⁵⁶. Aunque este test sólo detecta el serogrupo I, este es responsable del 80% de los casos esporádicos de neumonías causadas por *L. pneumophila*. Recientemente, la FDA ha aprobado un nuevo test de PCR (BD ProbeTec ET *Legionella pneumophila*; Becton Dickinson) capaz de detectar todos los serotipos de *L. pneumophila*, pero la experiencia clínica publicada es escasa.

Otros tests de PCR en estudio, como los desarrollados para los patógenos atípicos como la *Chlamydia pneumoniae* o el SARS adolecen de diferentes limitaciones. En el caso del test de PCR para *Chlamydia pneumoniae*, una revisión realizada por el "CDC. Centers for Disease Control and Prevention" indicó que sólo cuatro de los dieciocho reactivos de PCR cumplían los criterios de validez del test necesarios. Por otro lado, los tests desarrollados para el SARS han resultado inadecuados por el elevado número de falsos negativos en las fases iniciales de la infección¹⁰.

La detección de DNA de *S. pneumoniae* es útil en muestras de líquido pleural, mientras que la sensibilidad en muestras de sangre es baja⁵⁷. En períodos epidémicos está indicada la detección de virus respiratorios como el virus de la gripe, preferentemente en aspirado nasofaríngeo. En este caso, las técnicas rápidas de inmunofluorescencia y de inmunocromatografía pueden tener una elevada especificidad (90-95%), lo que permite instaurar tratamiento de manera precoz, aunque la sensibilidad es baja y depende de la calidad de la muestra y de la carga viral.

2.5. TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO.

El objetivo del tratamiento de la NAC es la erradicación del agente infeccioso y la consiguiente resolución del cuadro, constituyendo por tanto los antibióticos el tratamiento central de esta patología. La selección adecuada del antibiótico depende del microorganismo causal y de su susceptibilidad. Sin embargo, en la mayoría de episodios y a pesar de los avances en las técnicas diagnósticas, el tratamiento inicial sigue siendo empírico. Su elección se fundamenta en la cobertura de los patógenos que ocasionan más frecuentemente NAC y tendrá en consideración diferentes aspectos: factores de riesgo para resistencia antibiótica y comorbilidades médicas que puedan influir en la existencia de patógenos específicos y/o conducir al fracaso terapéutico. La discusión del tratamiento empírico se puede hallar en las diferentes guías terapéuticas publicadas (tabla 4)^{10,50}. Como recomendación global importante, en todas las guías se aconseja iniciar la primera dosis de antibiótico en las primeras 4-8 horas de ingreso, dado que el retraso en el inicio del tratamiento antibiótico se ha asociado a un incremento de la mortalidad. Los resultados de dos estudios sugirieron que un diagnóstico y un tratamiento antibiótico precoces se asociaba a mayor supervivencia y menor estancia hospitalaria^{36,37}.

En cuanto a la duración del tratamiento, siguiendo las recomendaciones actuales, esta debe ser de 5-7 días en el paciente con CAP leve-moderada, prolongándose en caso de persistencia de fiebre durante más de 72 horas, persistencia de más de un criterio de inestabilidad clínica, cobertura antibiótica inicial inadecuada y aparición de complicaciones extrapulmonares¹⁰.

Tabla 4. Tratamiento antibiótico empírico recomendado en la NAC. Guía de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas Americana/ Sociedad Americana de Neumología (IDSA/ATS)¹⁰.

Características del paciente	Tratamiento antibiótico recomendado
<p>Paciente ambulatorio</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sin patología previa y sin utilización de antibiótico en los 3 meses previos. 2. Presencia de comorbilidades como patología cardíaca, pulmonar, hepática o renal crónicas; neoplasia; asplenia; condiciones de inmunosupresión o terapia inmunosupresora; o utilización de antibióticos en los últimos 3 meses. 3. En regiones con elevada tasa ($\geq 25\%$) de infección por <i>S. pneumoniae</i> con resistencia de alto nivel a macrólidos ($MIC \geq 16 \mu\text{g/ml}$), considerar utilizar uno de los antibióticos planteados en el apartado (2) en pacientes sin comorbilidad. 	<ul style="list-style-type: none"> • Un macrólido (recomendación fuerte, nivel de evidencia I) • Doxiciclina (recomendación débil, nivel de evidencia III) • Una fluoroquinolona respiratoria (moxifloxacino, levofloxacino [750 mg], gemifloxacino) (recomendación fuerte, nivel de evidencia I) • Un β-lactámico más un macrólido (recomendación fuerte, nivel de evidencia I)
<p>Paciente ingresado en planta convencional</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Una fluoroquinolona respiratoria (recomendación fuerte, nivel de evidencia I) • Un β-lactámico más un macrólido (recomendación fuerte, nivel de evidencia I)
<p>Paciente ingresado en la UCI</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Un β-lactámico (cefotaxima, ceftriaxona, ampicilina-sulbactam) más azitromicina (nivel II de evidencia) o una fluoroquinolona respiratoria (recomendación fuerte, nivel de evidencia I), en los pacientes alérgicos a penicilina se recomienda una fluoroquinolona y aztreonam
<p>Situaciones especiales</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Si posibilidad de <i>P. aeruginosa</i> 2. Si posibilidad de MARSA 	<ul style="list-style-type: none"> • Un β-lactámico antipseudomónico, antineumocócico (piperacilina-tazobactam, cefepime, imipenem, o meropenem) más ciprofloxacino o levofloxacino [750 mg] fluoroquinolona • o el β-lactámico antipseudomónico, antineumocócico más un aminoglicósido y azitromicina • o un β-lactámico antipseudomónico, antineumocócico más un aminoglicósido y una fluoroquinolona antineumocócica (en los pacientes alérgicos a betalactámicos sustituir el β-lactámico por aztreonam) (recomendación moderada, nivel de evidencia III) • Añadir vancomicina o linezolid (recomendación moderada, nivel de evidencia III)

El fallo terapéutico se define como una falta de respuesta o deterioro clínico a pesar del tratamiento antibiótico y ocurre en un 15% de los pacientes. En una cohorte de 2457 pacientes inmunocompetentes hospitalizados por NAC, los pacientes con muerte precoz presentaban alteración del estado mental, taquicardia, insuficiencia renal, fiebre elevada, infiltrados multilobares, insuficiencia respiratoria y shock²⁴. La causa más común fue el retraso de respuesta por parte del huésped a pesar de un tratamiento antibiótico adecuado o la infección por un organismo que no se había cubierto en el tratamiento antibiótico inicial. La discordancia en la terapia antibiótica inicial fue debida a la falta de cobertura de la *P. aeruginosa* que incrementó la mortalidad en esta cohorte.

3. RESPUESTA INFLAMATORIA EN LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD

3.1 MECANISMOS DE RESPUESTA INFLAMATORIA EN LA NAC.

El pulmón es uno de los órganos más complejos de nuestro organismo. Durante el proceso de intercambio gaseoso está expuesto a un importante y variado número de partículas aéreas y de microorganismos potencialmente patógenos, debido a su continuo contacto con el exterior y a su extenso lecho vascular. Dado que estos agentes se depositan con frecuencia en el tracto respiratorio, se ha desarrollado un elaborado sistema de defensa dirigido a mantener la esterilidad del pulmón en el que se combinan mecanismos de defensa mecánicos, la respuesta inmunitaria innata y la respuesta inmunitaria específica.

Las barreras iniciales a la entrada de los agentes infecciosos en el pulmón incluyen defensas mecánicas específicas como la glotis, las secreciones respiratorias, un aparato mucociliar que recubre la superficie de las grandes vías respiratorias y el reflejo de la tos. Cuando estos mecanismos de defensa iniciales son superados y/o los microorganismos alcanzan la superficie de intercambio gaseoso del pulmón, se hace necesaria la intervención de una respuesta inmunitaria más potente para conseguir eliminar el agente infeccioso. La intensa presión ejercida por los microorganismos durante la evolución de los organismos multicelulares ha conducido a la selección de dos sistemas inmunitarios contra los agentes infecciosos: la inmunidad innata y la inmunidad adquirida o específica.

Los procesos celulares y moleculares de la respuesta inmunitaria innata defienden al huésped durante el período inmediato a la exposición a los microorganismos. El reconocimiento de los patógenos es problemático debido a

su heterogeneidad y a su elevada tasa de mutaciones. No obstante, el sistema inmunitario innato utiliza un número relativamente pequeño de moléculas para reconocer una amplia variedad de estructuras moleculares asociadas a los microorganismos. Estos receptores reconocen patrones moleculares compartidos por un amplio número de patógenos y han sido denominados “pattern-recognition receptors” (PRR). Estos patrones, conocidos como “pathogen-associated molecular patterns” (PAMPs), son generalmente estructuras carbohidratadas, tienen funciones y son componentes comunes de las paredes celulares microbianas que los microorganismos no pueden seleccionar porque son imprescindibles para su supervivencia. Dado que los carbohidratos reconocidos por los PRR difieren absolutamente de los antígenos propios, el sistema inmunitario reconoce la unión de los PRRs a dichas estructuras como la señal que indica la presencia de un patógeno. Entre los PAMPs más característicos se incluyen los ácidos teicoico y lipopolisacárido, sustancias compartidas por las bacterias gram-positivas y gram-negativas, respectivamente. Entre los PRRs más conocidos se encuentran el CD14 (macrófagos, células epiteliales) y las integrinas (macrófagos, células natural killer, células dendríticas, células T)⁶⁰.

Tras el reconocimiento del microorganismo, el sistema inmune innato controla el inicio de la respuesta inflamatoria y el de la respuesta inmunitaria específica. Las señales endógenas inducidas por la interacción PAMP-PRR incluyen señales que activan la respuesta inflamatoria como el TNF- α , IL-1, IL-6, interferon (IFN) α/β y quimoquinas (IL-8); señales que funcionan como coestimuladores de la activación de los linfocitos T, B7.1 y B7.2; y señales que

regulan la diferenciación de funciones efectoras como IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, “transforming growth factor β ” (TGF β) e IFN- γ .

La activación de los macrófagos representa uno de los primeros eventos en la respuesta innata contra el patógeno. Los microorganismos, ingeridos por el macrófago, segregan toxinas que activan en esta célula la producción de citocinas inflamatorias que contribuyen a la activación de las células fagocíticas. Así, el macrófago libera IL-12 y TNF- α , estas citocinas, en sinergia, activan en las células NK la producción de IFN- γ que estimulará la actividad bactericida del macrófago. La producción de IL-12 es regulada por mecanismos de feed-back: IFN- γ induce su liberación, mientras que IL-10, también producida por el macrófago, la inhibe.

Ante una carga bacteriana baja o la exposición a microbios poco virulentos, los macrófagos residentes en el alveolo ingieren y eliminan el microorganismo. Por el contrario, si la carga bacteriana es elevada o si un patógeno virulento alcanza la superficie del alveolo se requiere el reclutamiento de los neutrófilos para contener de manera efectiva el microorganismo en el pulmón, y eventualmente eliminarlo. El reclutamiento de los neutrófilos depende de la liberación de las citocinas implicadas en la fase inicial de la inflamación (TNF- α e IL-1); de la activación de las moléculas de adhesión expresadas en células endoteliales (ICAM-1) y de los neutrófilos (L-selectina); y de la producción de quimoquinas CXC (IL-8). Tras la llegada del microorganismo, TNF- α e IL-1 estimulan la activación de las células endoteliales contiguas y de las células inflamatorias. Asimismo, inducen la producción de quimoquinas CXC por los

macrófagos, células epiteliales, fibroblastos y células endoteliales, esencial para la migración de los leucocitos hacia el pulmón⁶⁰.

Con la llegada del microorganismo al tracto respiratorio también son reclutadas las células dendríticas, células del sistema inmunitario innato que actúan como presentadoras de antígeno. Las células dendríticas inmaduras tienen una elevada actividad endocítica, pero escasa capacidad de estimulación de los linfocitos T. Los productos bacterianos (lipopolisacáridos) y las citocinas inflamatorias (TNF- α e IL-1) inducen la migración de las células dendríticas desde el epitelio de las vías aéreas hacia los ganglios linfáticos regionales del pulmón así como determinados cambios en sus propiedades. En este proceso, estas células pierden su habilidad para capturar el antígeno y adquieren la capacidad de estimular las células T. De esta manera, la célula dendrítica madura presentará el antígeno que ha capturado en el epitelio respiratorio al linfocito T nativo ubicado en el ganglio linfático, actuando como un importante centinela en el sistema inmunitario.

La respuesta inmunitaria no específica de antígeno con frecuencia es efectiva en la eliminación del agente infeccioso o en limitar su multiplicación hasta que la respuesta inmunitaria específica pueda ser generada y sea completamente funcional, entre 7 y 10 días después de la entrada del patógeno. A partir de ese momento, los linfocitos T helper activados (células Th) orquestrarán la respuesta inmunitaria específica promoviendo la actividad bactericida de los macrófagos, la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B y la expansión clonal de linfocitos T citotóxicos.

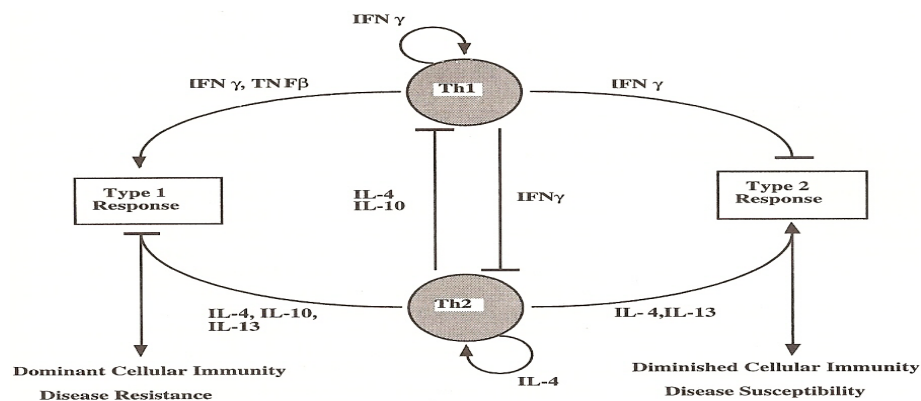
Los linfocitos T helper (Th) son activados específicamente por la unión al complejo formado por los péptidos resultantes de la degradación del microorganismo y las proteínas de membrana de histocompatibilidad (MHC) clase II presentes en la célula presentadora del antígeno. Dependiendo de las señales inducidas por el patógeno en las células del sistema inmunitario innato, se generará un entorno de citocinas que marcará qué vía de diferenciación seguirán los linfocitos T.

Los linfocitos T CD4+ y los linfocitos T CD8+ pueden polarizar su respuesta dependiendo del patrón de producción de citocinas que generan. Así, se han descrito dos fenotipos: Th1 y Th2 en los linfocitos T CD4+; “Th1-like” (Tc1) y “Th2-like” (Tc2) en los linfocitos T CD8+. Las células Th1/Tc1 (respuesta tipo 1) producen IL-2, TNF- α , IFN- γ y GM-CSF; son responsables de la activación de los macrófagos, de la citotoxicidad mediada por las células T CD4+ y favorecen la producción de IgG2a por las células B; todas ellas son respuestas asociadas con la inmunidad mediada por células o las reacciones de hipersensibilidad retardada. Las células Th2/Tc2 (respuesta tipo 2) producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, y facilitan la respuesta de la inmunidad humoral, especialmente contra alérgenos y helmintos⁶¹.

Con el avance en la sensibilidad de los test utilizados en la detección de las citocinas, se ha podido comprobar que algunas células T producen patrones mixtos de citocinas, con varias combinaciones de IL-2, IL-4, IL-5 e IFN- γ . Estas células han sido denominadas células Th0. Otras citocinas, como TNF- α , IL-3 y GM-CSF, son segregadas por ambos tipos de células, Th1 y Th2. Por otro lado,

un subgrupo de células llamadas Th3 segregan TGF- β . A pesar de esta heterogeneidad en los fenotipos de producción de citocinas de las células T, los patrones tipo 1 y 2 siguen siendo considerados fundamentales en la respuesta inmunitaria contra las infecciones (figura 3)⁶¹.

Fig 3: Producción de citocinas de las células Th1 y Th2 que amplifica y regula la respuesta inmunitaria mediada por células y que determina su polarización⁶¹.



Considerando lo mencionado hasta ahora sobre el funcionamiento de la respuesta inmunitaria, se puede concluir que las citocinas ejercen un rol fundamental en la defensa del huésped contra la infección. Desde su primera descripción en 1996, se ha demostrado la existencia de un gran número de citocinas con una amplia diversidad de funciones, orígenes celulares y receptores diana. Aunque inicialmente se pensó que las citocinas eran moduladores del sistema inmune producidos por macrófagos y monocitos, actualmente se conoce que son originadas por múltiples células conduciendo a numerosos efectos fisiopatológicos cuyo alcance va más allá del sistema inmune. Entre las células productoras de citocinas se incluyen monocitos y macrófagos alveolares, linfocitos, células epiteliales, células endoteliales,

fibroblastos y células parenquimatosas de las vísceras gastrointestinales. En general, estas citocinas son producidas tras la activación celular y actúan a través de su unión a receptores expresados en las células diana. A través del receptor inducen señales bioquímicas intracelulares que alteran la función celular. Sus efectos en el crecimiento, diferenciación, citolisis, quimiotaxis y estimulación inmunológica desempeñan un papel crucial en la respuesta contra la infección⁶².

El desarrollo de la respuesta inflamatoria del pulmón durante la neumonía es un complejo proceso en el que se encuentran implicadas citocinas pro- y anti-inflamatorias. Durante el desarrollo de una neumonía, la respuesta inmunitaria innata constituye el primer paso en la eliminación del patógeno del tracto respiratorio inferior. La generación de una respuesta inflamatoria en el interior del tracto respiratorio es esencial en la eliminación del microorganismo, actuando el neutrófilo como pieza clave en la histología de esta respuesta. Si esta respuesta se desarrolla sin alteraciones, discurrirá de manera organizada dando paso a la resolución y reparación tisular que retorna el pulmón a la homeostasis. Una de las citocinas pro-inflamatorias clave en el inicio de la respuesta inflamatoria es el TNF- α ⁶³.

La citocina TNF- α es considerada una citocina pro-inflamatoria o de alarma que frecuentemente actúa en concierto con la citocina IL-1, orquestando la inflamación local cuando se halla a bajas concentraciones y en compartimentos tisulares delimitados, como es el caso del pulmón. TNF- α influye en el componente celular de la respuesta inflamatoria activando neutrófilos,

linfocitos y monocitos; induciendo la expresión de moléculas de adhesión de los leucocitos y estimulando la liberación de citocinas quimiotácticas. Activa asimismo la liberación de metabolitos del ácido araquidónico y óxido nítrico, con una acción vasodilatadora, y la producción de factor activador plaquetario y de otros procoagulantes⁶⁴.

En un estudio experimental, la instilación de LPS a nivel traqueal se siguió de un rápido aumento de los niveles de TNF- α , inexistentes antes de la instilación de LPS, y de un marcado flujo de neutrófilos desde el compartimiento vascular hacia el tracto respiratorio inferior. Un hallazgo importante en este estudio fue la comprobación de una liberación compartimentalizada del TNF- α , la instilación de LPS en suero no ocasionaba incremento de los niveles de TNF- α en el BAL, y viceversa, la instilación de LPS en BAL no condujo a aumento del TNF- α en suero⁶⁴. Dehoux [et al] en un estudio realizado en 15 pacientes con NAC unilateral, hallaron mayores niveles de citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) en el lavado broncoalveolar (BAL) del pulmón afecto respecto al pulmón sano y a los individuos control. Los niveles de citocinas fueron inferiores en el suero respecto al BAL⁵. Los resultados de estos estudios evidencian la compartimentalización de la respuesta inflamatoria en el pulmón infectado mediante una producción de citocinas limitada al lugar de la infección.

La liberación local de citocinas es clave en la respuesta del huésped contra la infección. En modelos animales, la neutralización del TNF- α altera la respuesta contra un amplio número de patógenos: *L. pneumophila*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae* y *S. aureus*, entre otros. Determinados factores de

riesgo como el alcoholismo aumentan la susceptibilidad para desarrollar una neumonía mediante la alteración de la actividad del TNF- α . Por otra lado, infecciones extrapulmonares, como la sepsis, se han asociado a un aumento del riesgo de neumonía. En ellas se ha descrito la presencia de un fallo en el desplazamiento de los neutrófilos hacia el pulmón infectado que se acompaña de una proliferación del patógeno. Se ha hipotetizado que la sepsis sistémica conduciría a una infraregulación de la respuesta del MF alveolar a una carga infecciosa secundaria reduciendo su capacidad en la producción de citocinas (TNF- α e IL-1)⁶³.

Aunque no poseen una actividad quimiotáctica directa, las citocinas TNF- α e IL-1 son potentes inductores de la producción de IL-8 por varios tipos celulares, incluyendo macrófagos, células epiteliales tipo II y fibroblastos pulmonares. Entre la familia de citocinas quimiotácticas o quimoquinas, IL-8 ha sido identificada como el factor quimiotáctico más potente de los neutrófilos en el pulmón. Boutten [et al] demostraron la compartimentalización de la producción de IL-8 en el pulmón utilizando un modelo de NAC unilateral. En este estudio, los niveles de IL-8 en el pulmón infectado mostraron una correlación positiva con el recuento de leucocitos, y con el número absoluto y porcentajes de neutrófilos⁶.

La citocina IL-6 es considerada, al igual que TNF- α e IL-1 β , una citocina de la fase inicial de la respuesta inflamatoria. A la liberación de TNF- α le sigue la aparición de IL-1 β e IL-6⁶². IL-6 ha sido identificada como un potente inductor de la producción hepática de reactantes de fase aguda, incluyendo la proteína C reactiva. Orquist [et al] investigaron en un estudio observacional el valor

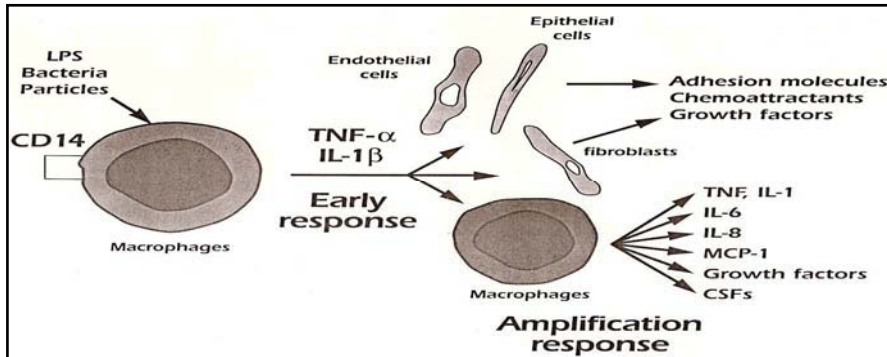
diagnóstico y pronóstico de IL-6. Evaluaron 277 pacientes con NAC con determinaciones de los niveles de IL-6 y PCR en los días 0, 1, 2 y 3 del ingreso. Los autores demostraron una correlación positiva de los niveles de IL-6 con la severidad de la neumonía en cuanto a duración de la fiebre y de la hospitalización, así como retraso de la resolución radiológica. Los pacientes no supervivientes tendieron a mostrar niveles de IL-6 superiores respecto a los supervivientes. Los niveles de IL-6 se correlacionaron con los de PCR, reforzando así el conocido papel de IL-6 como un importante inductor de la PCR. Respecto a la etiología, los niveles de IL-6 fueron superiores a 300 ng/ml sólo en los episodios de neumonía neumocócica, 50% de ellos bacteriémicos⁶⁵. Estos resultados avalan los obtenidos por Kraggsberg [et al] quienes hallaron que la mayoría de pacientes con NAC de etiología definida presentaron niveles de IL-6 superiores a 75 ng/L, presentando los niveles más elevados aquellos con neumonía neumocócica y los más bajos los infectados por *Mycoplasma pneumoniae*⁶⁶. Habiendo sido demostrada la compartimentalización de la respuesta inflamatoria en las infecciones respiratorias, los niveles elevados de IL-6 en la infección bacteriémica probablemente reflejan una respuesta inflamatoria local más intensa en el lugar de la infección que conduciría a la liberación de una cascada de mediadores inflamatorios a la circulación sanguínea⁶².

La citocina IL-10 es considerada mayoritariamente una citocina antiinflamatoria, regula la respuesta inflamatoria mediante la inhibición de la activación de los macrófagos, la respuesta de los linfocitos Th1 y la liberación de factores quimiotácticos para los neutrófilos. Inhibe por tanto la producción de

TNF- α , IFN y miembros de la familia de las quimoquinas. Al igual que otras citocinas, la producción de IL-10 se encuentra compartimentalizada en el pulmón durante la neumonía⁶³. En un modelo animal, la instilación nasal de *S. pneumoniae* se siguió de un incremento de IL-10 en pulmón. En el mismo modelo, la administración de IL-10 dos horas antes de la inoculación de *S. pneumoniae*, redujo la respuesta de TNF- α e IFN en comparación con los animales control. Esto se asoció a un aumento del recuento bacteriano en los pulmones y en sangre, así como a un incremento de la mortalidad. A la inversa, el tratamiento previo con anti-IL-10 ocasionó el efecto contrario, disminución del recuento bacteriano y aumento de los niveles TNF- α en el pulmón e incremento de la supervivencia⁶⁷. Es probable que durante un episodio de neumonía en un huésped normal IL-10 module la respuesta inflamatoria inicial desencadenada por el patógeno en un intento de preservar la función normal del pulmón y mantener la homeostasis. Por ello, la inhibición de esta citocina en un paciente infectado podría amplificar potencialmente la respuesta inflamatoria y precipitar el daño pulmonar. Alternativamente, si IL-10 no queda localizada en el pulmón puede actuar más allá del órgano de origen e incrementar la susceptibilidad del huésped a una segunda infección⁶³. También son consideradas citocinas antiinflamatorias sTNFrp55, el sTNFrp75 y el receptor antagonista de IL-1.

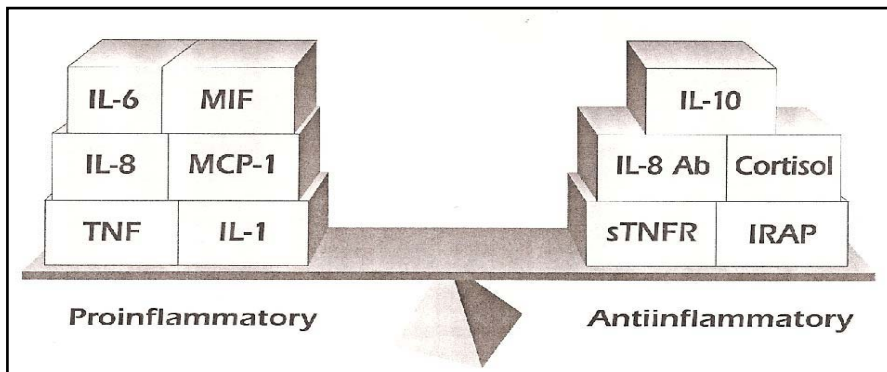
Las citocinas se producen en cascada, la producción de las citocinas iniciales se sigue de una respuesta amplificada por células diana como las células epiteliales y las mesenquimales. Por otro lado, el funcionamiento en forma de redes, en las que existen diferentes puntos de feedback, permite coordinar y regular las citocinas y la respuesta celular⁶⁸.

Figura 4. Esquema de la respuesta inflamatoria mediada por citocinas⁶⁸.



En la neumonía, el adecuado balance entre las citocinas pro- y anti-inflamatorias mantiene la respuesta inflamatoria del huésped limitada a un lugar específico del tejido en el intento de mantener la homeostasis. En el caso que el balance entre ambos tipos de citocinas se altere a favor de las citocinas proinflamatorias, la respuesta final puede afectar a todo el órgano, conducir al síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA), o incluso, evolucionar hacia el desarrollo en todo el organismo del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).

Figura 5. Balance entre mediadores pro- y anti-inflamatorios⁶⁸.



Diversos estudios han apoyado el papel crucial de la respuesta inflamatoria en la evolución de la neumonía a partir de la investigación de la expresión de las citocinas en pacientes con NAC:

- Puren [et al] investigaron la asociación entre niveles elevados de citocinas y la severidad de la NAC. Realizaron una determinación en suero de las citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 en pacientes con NAC, previamente al inicio del antibiótico. Incluyeron dos grupos de pacientes: un grupo con NAC severa que requirió ingreso en la UCI (ICUP, n=12) y otro grupo con NAC menos severa que ingresó en la planta convencional (NONICUP, n=9). Se añadieron 2 grupos control: uno con infección no respiratoria que no precisó ingreso en la UCI (NONP, n=9) y otro sin infección, pero con patología quirúrgica que precisó ingreso en la UCI, principalmente para ventilación mecánica (POSTOP, n=11). Las tres citocinas estudiadas presentaron niveles más elevados en los pacientes con NAC severa, siendo esta diferencia estadísticamente significativa en el caso de TNF- α (tabla 5). Los autores concluyen que IL-1 β se correlacionó con la severidad de la infección al mostrar concentraciones más elevadas en la NAC severa respecto a la NAC leve y las infecciones no respiratorias así como los niveles más bajos en el grupo POSTOP. Respecto a IL-6, los niveles fueron elevados en los dos grupos ingresados en la UCI, reflejando su relación con la severidad del estrés. Finalmente, TNF- α se correlacionó con la severidad de la infección respiratoria al presentar niveles más elevados en la NAC severa respecto a la NAC más leve⁵⁸.

Tabla 5. Concentraciones plasmáticas de TNF- α , IL-1 β e IL-6 en los cuatro grupos. *p<0.05 respecto grupo ICUP⁵⁸.

IL-1β pg/mL (media\pmDE)	
ICUP	659 \pm 67.5
NONP	530 \pm 35.5
NONICUP	496 \pm 43.3
POSTOP	443 \pm 18.5*
IL-6 pg/mL (media\pmDE)	
ICUP	1773 \pm 447.7
POSTOP	1676 \pm 502.8
NONICUP	855 \pm 423.9
NONP	267 \pm 15.1
TNF-α pg/mL (media\pmDE)	
ICUP	61 \pm 17.5
NONP	27 \pm 6.7
POSTOP	23 \pm 2.5
NONICUP	9.5 \pm 1.5*

- Glynn [et al] estudiaron la relación entre la severidad de la sepsis en la NAC y los niveles de citocinas circulantes. Determinaron los niveles de IL-6 e IL-10 en el suero de 38 pacientes con NAC en el momento del ingreso. Establecieron 2 grupos: un grupo con criterios de SIRS (n=28) y un grupo sin criterios de SIRS (n=10). En 80% de los pacientes se detectó niveles circulantes de IL-6 y en 60% de IL-10. Los pacientes con SIRS presentaron niveles superiores de IL-6 e IL-10 respecto al grupo sin SIRS. Los pacientes en los que se detectó IL-6 mostraron niveles más elevados de IL-10 respecto a los que no lo hicieron. Ambas citocinas se correlacionaron con la escala APACHE. Los autores concluyen que la existencia de una respuesta antiinflamatoria más marcada en los pacientes con SIRS y en los pacientes con IL-6 positiva sugiere un papel inmunomodulador de la IL-10 en el control de la respuesta inflamatoria en la NAC⁹.
- Antunes [et al] investigaron la relación entre los niveles de citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) y anti-inflamatorias (IL-10, IL1-ra) y las escalas de severidad de la neumonía. Incluyeron 24 pacientes con

NAC en los que se obtuvieron muestras de suero en el momento del ingreso y en los días 3 y 5. Todas las citocinas fueron detectadas en la mayoría de pacientes y disminuyeron significativamente a lo largo del ingreso en los supervivientes. Sólo IL-6 mostró niveles significativamente superiores en los pacientes de elevado riesgo respecto a los de bajo riesgo según la escala de severidad de la NAC de la BTS. También se correlacionó con la escala de APACHE II en el momento del ingreso. Los autores concluyen que IL-6 es la citocina que mejor se correlaciona con el pronóstico de la neumonía⁶⁹.

- Kelum [et al] estudiaron la relación entre el patrón de respuesta inflamatoria, incluyendo el balance entre las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, y la severidad de la NAC. Realizaron un estudio multicéntrico que incluyó 1886 pacientes con NAC, en los que se determinaron diariamente la primera semana y semanalmente después, los niveles en suero de TNF- α , IL-6 e IL-10. Se encontraron niveles más elevados de IL-6 e IL-10 en aquellos pacientes con NAC que evolucionaron hacia la sepsis respecto a los que no lo hicieron, aunque la diferencia entre ambos grupos fue modesta. La alteración del balance (elevado/bajo) en los patrones de citocinas se observó solo en el 4.6% de los pacientes y no se asoció a disminución de la supervivencia. Los autores concluyen que la alteración del balance de las citocinas es infrecuente y que la mortalidad es más elevada cuando ambos grupos de citocinas, proinflamatorias y antiinflamatorias, están elevadas⁷⁰.

En los últimos años, se ha incrementado la evidencia respecto al papel fundamental de un adecuado balance en la producción de citocinas en el pronóstico de la neumonía. Algunos autores han sugerido que la cuantificación de la respuesta inflamatoria podría tener implicaciones en dicho pronóstico. En este sentido, un mejor conocimiento del perfil de respuesta inflamatoria podría ayudar al desarrollo de nuevas terapias para la NAC. Sin embargo, la relación entre el perfil de la respuesta inflamatoria y la evolución clínica de la neumonía no está del todo dilucidada, probablemente por diferentes aspectos: complejidad de la cascada inflamatoria, “timing” entre la recogida de la muestra y el inicio de la infección, inclusión en los estudios de diferentes etiologías, metodología en la recogida de las muestras y en la determinación de las citocinas y el efecto de los antibióticos sobre la respuesta inflamatoria entre otros.

3.2. RESPUESTA INFLAMATORIA SEGÚN ETIOLOGÍA.

3.2.1 S. pneumoniae

Uno de los aspectos a investigar acerca de la respuesta inflamatoria en la NAC es la implicación de las diferentes etiologías en dicha respuesta. Entre los patógenos causantes de NAC, el *S. pneumoniae* es el más frecuentemente aislado y una de las causas más comunes de shock séptico, meningitis bacteriana y síndrome de distrés respiratorio del adulto⁷¹. La neumonía neumocócica bacteriémica es considerada un factor de riesgo independiente para mortalidad precoz en la NAC (<48h)⁷². Entre los predictores de mortalidad por neumonía neumocócica bacteriémica se incluye la edad avanzada y las enfermedades subyacentes, sin embargo, no se han hallado diferencias en mortalidad en cuanto a la existencia o no de resistencia antibiótica del *S. pneumoniae*⁷³. De hecho, la mayoría de pacientes que mueren durante las primeras horas han recibido antibióticos apropiados, incluyéndose entre las principales causas de muerte precoz (<48 h) la insuficiencia respiratoria y el fallo multiorgánico⁷². La mala evolución en estos casos, no dependería tanto del antibiótico como de una respuesta inflamatoria inadecuada por parte del huésped⁷⁴, lo que ha llevado a postular que la modulación de esta respuesta inflamatoria podría tener implicaciones en el pronóstico de la infección.

A pesar de la elevada morbilidad y mortalidad de la neumonía neumocócica la interacción entre el huésped y el patógeno es poco conocida. En la defensa del huésped contra la infección por *S. pneumoniae* es crucial el desarrollo de una respuesta inmunitaria innata no específica y precoz que

eliminará el microorganismo o limitará su multiplicación hasta que la respuesta inmunitaria específica pueda ser generada.

En la respuesta inmunitaria innata contra el neumococo la activación de la vía del complemento desempeña un rol fundamental. El sistema del complemento incluye más de 30 proteínas séricas y de membrana que contribuyen en la defensa del huésped actuando como factores quimiotácticos, opsoninas y agentes bactericidas. Entre las diferentes vías de activación del complemento, la vía clásica es la vía dominante en la protección contra el neumococo, siendo los anticuerpos naturales y las proteínas de fase aguda, la proteína amiloide sérica y la proteína C reactiva, determinantes en su activación. La vía alternativa contribuye en menor medida en la defensa contra esta bacteria. Independientemente de la vía de activación, las funciones principales del complemento son la opsonización de la superficie microbiana promoviendo la fagocitosis, la activación de la quimiotaxis del neutrófilo y la eliminación directa del microorganismo mediante la formación de un complejo de ataque a la membrana. La importancia del complemento en la defensa del huésped contra el neumococo es demostrada por las infecciones severas que sufren los individuos con déficit del complemento. Es conocido que los pacientes con déficit genético de C3, componente central en las tres vías de activación, padecen infecciones recurrentes por neumococo y otras bacterias encapsuladas a lo largo de su vida⁷⁵.

El neumococo ha desarrollado varios mecanismos de evasión contra el complemento. Todas las cepas de *S. pneumoniae* aisladas en la clínica son

encapsuladas siendo el polisacárido de la cápsula el mayor determinante de la virulencia. La cápsula contribuye a la patogénesis protegiendo el neumococo de la opsonofagocitosis mediada por el complemento, pero también evitando el atrapamiento por el moco y el neutrófilo. La cápsula previene la opsonofagocitosis por múltiples mecanismos incluyendo la alteración de la proteína C reactiva y de la unión a la superficie bacteriana de los anticuerpos IgG.

En la patogenia de la infección por neumococo también desempeña un rol fundamental la neumolisina, proteína intracelular que se libera durante la lisis bacteriana, comportándose como una toxina derivada del neumococo. Esta proteína activa la vía clásica del complemento y se une a los neutrófilos, de manera que a bajas concentraciones estimula la migración de los granulocitos y la liberación de enzimas granulares, mientras que a elevadas concentraciones puede desencadenar la lisis de neutrófilos y plaquetas. De esta manera, la neumolisina puede influir en la respuesta inflamatoria contra el neumococo y en los efectos sistémicos de la infección⁷⁵.

Durante el desarrollo de la neumonía, el *S. pneumoniae* se localiza principalmente en los macrófagos alveolares y en menor grado en las células epiteliales tipo II. El macrófago alveolar ejerce un papel crucial en la orquestación de la respuesta inmunitaria innata contra el *S. pneumoniae*, constituye el principal origen de las citocinas proinflamatorias iniciales (TNF- α) y su apoptosis a las 24 horas de la infección podría contribuir a la defensa del huésped contra la bacteria. Por otro lado, las células epiteliales contribuirían

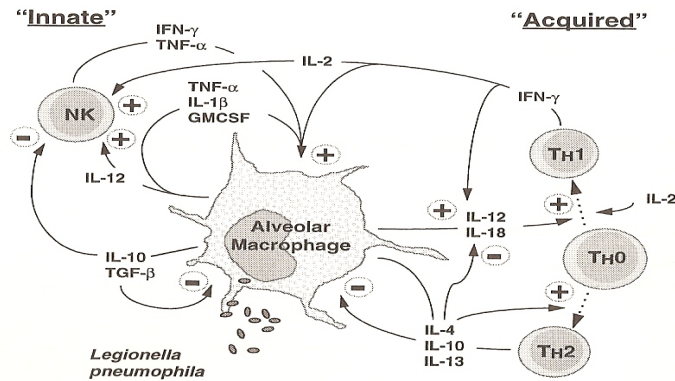
también en el desarrollo de la respuesta inflamatoria pulmonar mediante la liberación de citocinas (IL-6 e IL-8)⁷¹. La producción de niveles excesivamente elevados de estas citocinas proinflamatorias podrían conducir al desarrollo de ARDS y SIRS así como a una mayor mortalidad^{7,9,76}. En este sentido, los componentes de la pared celular, principalmente el ácido teicoico y el ácido peptoglicano, podrían estar implicados en la inducción de la liberación de citocinas (TNF α - e IL-6) por parte de los monocitos y contribuir al desarrollo del shock séptico en la neumonía neumocócica, produciendo un efecto similar al de las endotoxinas bacterianas en el caso del shock séptico por bacilos gram negativos⁷⁷.

3.2.2. *Legionella pneumophila*

La *L. pneumophila* es un patógeno que se encuentra ampliamente distribuido en el agua ambiental, desarrollándose la patología en el individuo después de la inhalación de aerosoles contaminados. La *L. pneumophila* se caracteriza por ser un parásito intracelular de los macrófagos alveolares que afecta a individuos inmunocomprometidos, entre ellos los que reciben terapia corticoidea, aspecto que revela la importancia de la respuesta inmunitaria mediada por células del huésped contra la infección por éste patógeno⁷⁸.

Las citocinas coordinan la respuesta del huésped contra la infección intracelular y median en muchas de las manifestaciones de la enfermedad (figura 5).

Figura 5. Red de citocinas que participan en la defensa del huésped contra la infección por *L. pneumophila*⁷⁸.



El IFN- γ es un mediador esencial en la respuesta del huésped contra la infección por *L. pneumophila* que actúa en cada uno de los estadios de la patogénesis intracelular. A través de su efecto sobre los receptores de superficie impide la entrada de la bacteria en los fagocitos. Es conocido que la *L. pneumophila* se secuestra a si misma en fagosomas que resisten la fusión con los lisosomas y el medio ácido. El IFN- γ puede disminuir este secuestro protector de la *L. pneumophila* en el entorno intracelular favoreciendo la fusión fagolisosomal. Asimismo, puede estimular la producción de reactantes de oxígeno antimicrobianos y el metabolismo de nitrógeno, ambos implicados en la eliminación de la bacteria, y limitar la disponibilidad de nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano. Además de sus efectos directos de activación del macrófago, el IFN- γ influye en la respuesta del huésped contra la infección intracelular alterando la producción por parte del macrófago de otras citocinas inmunomoduladoras. En este sentido, estimula la liberación de TNF- α por parte de los macrófagos alveolares y monocitos infectados, mientras que inhibe la

producción de IL-10 por los monocitos. Estos efectos sobre las citocinas potencian los efectos del IFN- γ en la resistencia del macrófago contra la infección.

Aunque el IFN- γ es el mediador más importante en la respuesta del huésped contra la infección por *L. pneumophila*, otras citocinas intervienen asimismo en dicha respuesta. Entre las más investigadas se incluye TNF- α , IL-2, IL-12 e IL-10.

El TNF- α interviene de manera crucial en la respuesta del huésped contra la infección por *L. pneumophila* suprimiendo el crecimiento de la *L. pneumophila* en los fagocitos mononucleares y promoviendo la actividad microbicida de los neutrófilos.

La IL-2 ha sido investigada por su potencial papel en la estimulación de las células citotóxicas contra la *L. pneumophila*. Existe evidencia sobre el papel de algunas células mononucleares nativas, principalmente NK, presentes en sangre periférica y con capacidad para desarrollar una actividad citotóxica contra *L. pneumophila* que sería incrementada por IL-2. Sin embargo, la importancia de esta respuesta citotóxica en la defensa del huésped contra la *L. pneumophila* todavía no es bien conocida.

La IL-12 es un mediador crucial en la respuesta innata y adquirida contra la infección por *L. pneumophila*, actuando como coactivador de las células NK y estimulando la maduración de la respuesta Th1.

Finalmente, IL-10 estimula la replicación intracelular de la *L.pneumophila* a través de mecanismos todavía poco conocidos. En la actualidad, no se dispone de suficiente evidencia sobre el rol en la respuesta contra la *L. pneumophila* de otras citocinas como IL-1 β , IL-6, GM-CSF o las quimoquinas⁷⁸.

3.2.3. Bacilos gram-negativos.

Los patógenos gram-negativos (BGN) son causa menos frecuente de NAC, pero asocian mayor mortalidad respecto a los patógenos más comunes. En la defensa del huésped contra las bacterias gram negativas, los liposacáridos (LPS) presentes en la membrana de estas bacterias actúan como potentes inductores de la respuesta inmunitaria. El LPS se une a una proteína de fase aguda denominada “LPS binding protein” (LBP). Esta proteína es producida en el hígado y su producción es regulada por citocinas inflamatorias como la IL-6. El complejo LPS-LBP se une al receptor CD14 de los macrófagos y monocitos activando la liberación de diversas citocinas inflamatorias. Los liposacáridos estimulan asimismo la secreción por parte de los neutrófilos de citocinas pro-inflamatorias como el TNF- α y la IL-12⁷⁹.

En la patogenicidad de las bacterias gram negativas también intervienen diferentes proteínas segregadas por la propia bacteria. Así, se ha descrito que la α -hemolisina segregada por la *E.coli* es directamente tóxica sobre los macrófagos y altera la producción de TNF- α , IL-1 β e IL-6. También se ha demostrado que la exoenzima U segregada por la *P. aeruginosa* altera la integridad de la barrera alveolar y epitelial. Por otro lado, la elastasa producida

por esta misma bacteria interviene en la patogénesis del daño tisular pulmonar alterando la permeabilidad de los neumocitos tipo II⁸⁰.

Es conocido que la sobreestimulación de los sistemas de defensa del huésped puede conducir al daño tisular requiriendo por ello regulación. Se ha postulado que el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) y la IL-10 desempeñan esa función reguladora induciendo una tolerancia a la reestimulación por el lipopolisacárido. En un estudio se comparó la secreción de citocinas por leucocitos estimulados por LPS en pacientes que habían sobrevivido a una neumonía por bacterias gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* o *Proteus mirabilis*, n = 26) con un grupo de control de voluntarios sanos (n=18). La expresión de IL-12 y TNF- α fue significativamente inferior en los pacientes respecto al grupo control, mientras que la producción de G-CSF fue marcadamente superior en los pacientes. Los niveles de IL-10 fueron comparables. Los autores concluyen que sus resultados demuestran que la producción de G-CSF por los leucocitos estimulados por el LPS es un indicador útil de tolerancia al LPS en los pacientes con neumonía por BGN que han sobrevivido al episodio⁷⁹.

3.3. INTERACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA.

En la actualidad, el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad continúa ocupando un lugar central en el manejo de esta patología debido a su potente efecto bactericida y bacteriostático en las infecciones bacterianas. Sin embargo, también se debe tener en consideración la interacción que tiene lugar durante la terapia antibiótica entre el huésped, el microorganismo causal y el antibiótico. De esta interacción se derivaría el efecto modulador de algunos antibióticos sobre los mecanismos defensivos del huésped, así como determinados efectos colaterales de su acción antibacteriana. En este sentido, distintos trabajos de investigación experimental y clínica han investigado el papel inmunomodulador de la terapia antibiótica en la respuesta inflamatoria de la NAC. El efecto inmunomodulador de los antibióticos incluye la alteración de la fagocitosis, quimiotaxis, liberación de endotoxinas, recuperación del sistema hematopoyético después de la inmunosupresión, efecto tumoricida sobre algunas células tumorales y efecto sobre la producción de citocinas, elevando o disminuyendo los niveles de las principales citocinas⁸¹. Sin embargo, en una revisión de los trabajos publicados entre los años 1987 y 1994 sobre el efecto inmunomodulador de los antibióticos, Van Vlem [et al] hallaron que los datos eran heterogéneos y que en muchos fármacos no se disponía de información suficiente respecto a su efecto sobre determinados aspectos del sistema inmune⁸¹. En la tabla 6 se resumen los hallazgos de este estudio.

Tabla 6. Efectos inmunomoduladores de los antibióticos⁸¹.

Efecto inmunomodulador	Efecto positivo	Efecto negativo
Fagocitosis	Cefodizima Imipenem Cefoxitima Anfotericina B Clindamicina	Tetraciclina Eritromicina Roxitromicina Cefotaxima Tetraciclina Ampicilina Gentamicina
Quimiotaxis	Clindamicina Cefoxitin Imipenem	Cefotaxima Rifampicina Teicoplanina
Proliferación linfocitaria	Cefodizima	Tetraciclina
Producción de anticuerpos	Cefodizima	Josamicina Rifampicina Tetraciclina
Producción de citocinas	Eritromicina Anfotericina	

En esta revisión se observó que la mayoría de los datos reportados eran referidos a los efectos de los antibióticos sobre la fagocitosis y la quimiotaxis (72% de los datos), siendo la información publicada sobre otros aspectos de la inmunomodulación de los antibióticos mucho menor. En relación al papel de los antibióticos en la producción de citocinas, sólo se disponía de información sobre anfotericina B y eritromicina. Dicha información sugería que estos fármacos podían estimular la producción de citocinas. Los autores concluyen que tres antibióticos son potentes inductores del sistema inmunitario: imipenem, cefodizima y clindamicina, mientras que ocho antibióticos lo inhiben marcadamente: eritromicina, roxitromicina, cefotaxima, tetraciclina, rifampicina, gentamicina, teicoplanina y ampicilina.

Más recientemente, algunos estudios han sugerido que diversas clases de antibióticos utilizadas habitualmente en el tratamiento de la NAC, pueden interactuar con el sistema inmune de diferente manera:

1. Fluoroquinolonas. La capacidad de la mayoría de quinolonas para inhibir la producción de citocinas está bien documentada⁸². En el caso de levofloxacin, el efecto inhibitor de la producción de citocinas (TNF- α , IL-1 β) por monocitos humanos estimulados por polisacáridos es dosis-dependiente⁸³. Se ha descrito asimismo la capacidad de moxifloxacin para inhibir la producción de citocinas inflamatorias (TNF- α , IL-6) mediante su efecto sobre la degradación del I κ B α a través de la interferencia en la activación del (NF) κ B⁸⁴.

2. β -lactámicos. Su acción sobre la pared celular causa la liberación de componentes de la pared celular, principalmente polisacárido C y ácido lipoproteico, así como de proteínas citoplasmáticas como la neumolisina que actúan como potentes inductores de la respuesta inflamatoria. En un estudio randomizado en pacientes con neumonía neumocócica severa, se comparó la respuesta inflamatoria en un grupo tratado con levofloxacin con otro tratado con ceftriaxona. Los niveles de TNF- α resultaron inferiores a las 120 horas del inicio del tratamiento en el grupo tratado con levofloxacin respecto al tratado con ceftriaxona. Los autores interpretan que posiblemente en el grupo tratado con ceftriaxona se produjo una liberación mantenida de material bacteriano a la circulación sistémica, con la consiguiente estimulación de producción de TNF- α por los monocitos⁸⁵.

3. Macrólidos: los macrólidos poseen efectos inmunomoduladores, como la alteración en la función de los leucocitos, la expresión de citocinas y la producción de moco⁸⁶. En un estudio reciente, la claritromicina disminuyó significativamente los niveles de IL-6 y aumentó los de interferon- γ e IL-10 en

pacientes con NAC⁸⁷. Los efectos inmunomoduladores de los macrólidos pueden verse alterados por la presencia de la bacteria. En neutrófilos estimulados por lipopolisacárido, la claritromicina inhibe la producción de citocinas, mientras que la exposición a *Klebsiella pneumoniae* resulta en una estimulación de la liberación de citocinas por parte de la claritromicina⁸¹. De la misma manera, la azitromicina induce la apoptosis de neutrófilos en individuos voluntarios, mientras que la co-incubación con *S. pneumoniae* previene la apoptosis inducida por la azitromicina⁸¹.

3.4. TERAPIA ANTIINFLAMATORIA EN LA NAC.

La mortalidad de la NAC continúa siendo elevada a pesar de los avances en el diagnóstico etiológico, en el tratamiento antibiótico y en las medidas de soporte ¹⁵. Estudios recientes muestran que la erradicación del agente causal con antibióticos adecuados, no garantiza la transición de un parénquima pulmonar inflamado a un parénquima con estructura normal, y no asegura la supervivencia del paciente²⁴. Se ha podido constatar que la progresión de la NAC se asocia a un estado de hipercoagulación, hipotensión y alteración de la microcirculación que conduce hacia el fallo multiorgánico, así como a una respuesta inflamatoria excesiva del huésped contra la infección^{7,9,58}. Teniendo en cuenta estos aspectos, un número sustancial de pacientes con un elevado riesgo de deterioro clínico podrían ser tributarios de recibir terapias adyuvantes en el tratamiento de la neumonía que podrían ir dirigidas tanto hacia el microorganismo como hacia al huésped. Entre las posibles dianas terapéuticas se encuentran aquellas que tienen como objetivo mejorar la opsonización bacteriana (complemento, “toll-like receptors”); aquellas que potencian los mecanismos efectores del sistema inmune (inmunoglobulinas, interferon- γ , factor estimulante de colonias de granulocitos [G-CSF], TNF) y aquellas que atenuan la inmunopatología causada por la tormenta de citocinas (corticoides, estatinas, proteína C activada, antiinflamatorios, macrólidos, anticuerpos anti-TNF, receptores solubles del TNF, antagonistas del receptor del IL-1 e IL-10) (tabla 7).

Tabla 7. Terapias potencialmente inmunomoduladoras

Mejoría de la opsonización bacteriana

- Sustitución MLB (*mannose-binding lectin (MLB) rute*)
- Bloqueo receptor TLR4 (*toll-like receptors*)

Agentes potenciadores

- Inmunoglobulinas
- Interferon- γ
- Factor estimulante de colonias de granulocitos [G-CSF]
- TNF

Agentes atenuadores

- Corticoides
- Estatinas e inhibidores de la angiotensina
- Agentes anticoagulantes
 - Proteína C activada
 - Inhibidor de la vía del factor tisular
 - Heparina
- Inhibidores de la prostaglandina
 - Indometacina
 - Ácido Acetil Salicílico
- Macrólidos
- Anticuerpos-TNF
- Receptores solubles del TNF

3.4.1. Mejoría de la opsonización bacteriana

Respecto a la primera de las dianas terapéuticas, la mejoría de la opsonización del microorganismo, es conocido que cualquiera de las vías de activación del complemento conduce a la formación de un complejo de ataque a la membrana que producirá la lisis del patógeno. Hasta ahora se ha investigado la utilidad de actuar sobre una de ellas, la activación por residuos de manosa (*mannose-binding lectin (MLB) rute*). El MLB se une a varios patógenos respiratorios: *H. influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *L. pneumophila* y en

menor medida a *S. pneumoniae*. Se ha demostrado que los polimorfismos en las secuencias estructurales y promotoras del gen MBL2 conducen al déficit de producción de MLB que afecta a 10-15% de la población. En la actualidad, sólo se ha testado la sustitución de MLB en ensayos en fase I y III, no habiéndose reportado hasta ahora efectos negativos. De momento, la sustitución de MLB no se ha utilizado en pacientes con neumonía. En estos pacientes, la sustitución de MLB podría tener un papel como terapia adyuvante en pacientes con déficit de MLB⁸⁸.

También en la senda de mejorar la opsonización del microorganismo, se ha estudiado el bloqueo del receptor TLR4. Como ya se ha comentado previamente, los “toll-like receptors” (TLRs) son una familia de receptores que activan la respuesta inflamatoria después del reconocimiento de los patrones moleculares presentes en los microorganismos que causan NAC. Hasta ahora TLR4 es el único receptor cuyo bloqueo parece ser de utilidad en la terapia adyuvante. Recientemente se ha publicado un ensayo randomizado doble ciego con TAK-242 en pacientes con sepsis severa y shock séptico. En comparación con el placebo, no mostró diferencias en mortalidad y no hubo diferencias respecto a la disminución de los niveles de citocinas, lo que sugiere que están implicadas otras vías inflamatorias⁸⁹. Por otro lado, TLR4 estaría implicado en la respuesta inflamatoria de las bacterias que contienen lipopolisacáridos, poco frecuentes en la NAC. Por tanto, con los datos disponibles en la actualidad no habría un lugar para los antagonistas de TLR en el tratamiento de la NAC o de la sepsis.

3.4.2. Agentes potenciadores del sistema inmune

En relación a la segunda diana terapéutica, la potenciación del sistema inmune, se ha investigado el papel de las inmunoglobulinas, al considerar que reemplazando o elevando los niveles de inmunoglobulinas, especialmente IgG, se podría mejorar el atrapamiento de endotoxina y facilitar la fagocitosis. De hecho, esta hipótesis ya se había planteado en la era preantibiótica (1940). En la actualidad, se dispone de pocos estudios clínicos en los que se utilice IgG endovenosa en pacientes con infección y la mayoría están focalizados en el shock séptico por estreptococos. Aunque diferentes revisiones han mostrado beneficios en los pacientes tratados con IgG endovenosa, existe controversia sobre a qué se debe este beneficio: concentración de IgG, soporte de volumen con proteínas o efectos antiinflamatorios. Por otro lado, no hay análisis del subgrupo de pacientes con neumonía. Así, el uso de inmunoglobulinas en la neumonía aún es controvertido y restringido a pacientes con sepsis severa o shock⁸⁸.

Entre los posibles agentes potenciadores del sistema inmune se incluye asimismo el interferon- γ , potente estimulador de la actividad bactericida del macrófago, fundamental en la respuesta del huésped contra la infección por *Legionella pneumophila*. En estudios experimentales, la administración de interferon- γ en forma de bolus traqueal en ratas con neumonía por *L.pneumophila*, redujo la replicación de *L.pneumophila* en las ratas tratadas con corticoides, pero este efecto no se produjo en ratas inmunocompetentes. Hasta la fecha no se han realizado ensayos clínicos en neumonía⁸⁶.

Por otro lado, el factor estimulante de colonias de granulocitos [G-CSF] también ha sido sugerido como una opción de tratamiento de las infecciones en pacientes no neutropénicos, en base a estudios experimentales que han demostrado su capacidad para estimular la producción y la función de los neutrófilos. En un ensayo randomizado multicéntrico en el que se incluyeron pacientes con NAC severa sin shock séptico la administración de G-CSF triplicó los niveles de neutrófilos, pero sin embargo, no se hallaron diferencias en el tiempo de resolución de la neumonía, duración de la hospitalización ni la mortalidad de cualquier causa a los 28 días. Sí se vieron reducidas las complicaciones severas como el empiema, el síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA) o la coagulación intravascular diseminada (CID)⁹⁰. Por consiguiente, la evidencia disponible en la actualidad no permite recomendar el G-CSF como terapia adyuvante en pacientes con NAC no neutropénicos.

Finalmente, entre los posibles agentes potenciadores de la respuesta inmunitaria se incluye el TNF. En un modelo experimental murino la instilación intratraqueal de un agonista del TNF- α (TNF70-80) 7 días antes, pero no concomitantemente, al inóculo de *K. pneumoniae* mejoró la supervivencia de la neumonía causada por esta bacteria⁹¹. En otro estudio experimental, la terapia génica con Ad5mTNF (gen del TNF murino) mediante la administración intratraqueal de este vector junto con uno inóculo de *K. pneumoniae* se siguió de un aumento de la expresión pulmonar, pero no sistémica, del TNF- α , y se asoció a un mayor aclaramiento bacteriano en el pulmón, una reducción de la diseminación de la *K. pneumoniae* al torrente sanguíneo y una disminución de la mortalidad⁹².

3.4.3. Agentes atenuadores del sistema inmune

Respecto a la tercera diana terapéutica, la atenuación de la respuesta inmunitaria del huésped contra la infección, los corticoides han sido los agentes más estudiados. Diferentes aspectos hacen pensar en un posible efecto beneficioso de los corticoides en la NAC. Dado que se considera que el broncoespasmo puede desempeñar un papel significativo en algunos casos de neumonía, ya sea por la existencia de una enfermedad pulmonar obstructiva subyacente o por broncoespasmo inducido por un agente viral, el tratamiento con corticoides resultaría efectivo en dichos casos. Un segundo aspecto a tener en cuenta es su papel en la estimulación de componentes del sistema inmune, incluyendo la expresión de los TLR en algunas líneas celulares y el aumento de los niveles de surfactante (proteínas surfactantes A y D)⁸⁶. Se debe destacar que los corticoides son los inhibidores fisiológicos de la inflamación más importantes. Por un lado, pueden desactivar genes que codifican citocinas pro-inflamatorias, mientras que por otro, pueden activar genes que codifican citocinas anti-inflamatorias. A este efecto directo sobre la transcripción, se añade un posible efecto beneficioso en pacientes con sepsis severa y relativa insuficiencia adrenal, asociada a enfermedad grave y resistencia de los receptores de glucocorticoides inducida por la inflamación sistémica⁸⁸. Otras acciones de los corticoides, como la reducción de la quimiotaxis y de la fagocitosis de las células inflamatorias, contribuirían a reducir el daño pulmonar en la NAC⁹³.

En las últimas décadas, se ha avanzado en el conocimiento de la farmacología de los corticoides y sus mecanismos de acción. Los corticoides son transportados en la sangre principalmente unidos a la transcortina y a la

albúmina, únicamente una pequeña porción queda libre y estable metabólicamente. Las moléculas libres atraviesan la membrana citoplasmática y se unen a receptores específicos situados en el citoplasma celular. En el citoplasma el receptor del corticoide existe como un complejo que contiene el receptor en asociación a varias subunidades proteicas. Después de la unión de la hormona, el complejo del receptor corticoideo se traslada al núcleo donde puede interactuar con elementos del ADN o con factores de transcripción⁹³.

El efecto anti-inflamatorio y inmunosupresor de los corticoides se debe a 3 mecanismos moleculares⁹⁴:

1. Transactivación: El complejo corticoide-receptor activado se une como un homodímero a secuencias específicas del ADN, denominadas elementos de respuesta a los corticoides y generalmente localizadas en las regiones promotoras de los genes diana, para inducir la transcripción.
2. Trasrepresión: regulación negativa de la expresión de los genes mediante la interacción glucocorticoide-receptor-proteína. Este complejo se une como un monómero a factores de transcripción pro-inflamatorios como el activador de la proteína-1 (AP-1) y el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$). El complejo resultante inhibe la transcripción de genes relevantes. Este mecanismo está implicado en la inhibición de varios genes fundamentales en la inflamación, incluyendo TNF- α , IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8 y el factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF).
3. Vía no genómica: actividad del corticoide a través de receptores asociados a la membrana y segundos mensajeros. El mecanismo no genómico mejor descrito es el que afecta a la activación de la sintetasa del óxido nítrico endotelial. Se ha

demostrado que la activación no transcripcional del óxido nítrico por el corticoide sería responsable en buena parte de su rápido efecto antiinflamatorio.

Los efectos anti-inflamatorios e inmunosupresores de los corticoides se acompañan de efectos secundarios. El mecanismo de transrepresión sería fundamentalmente el responsable de la actividad anti-inflamatoria de los corticoides, mientras que los efectos secundarios estarían mediados por la vía de la transactivación^{95,96}. Diferentes estudios “in vivo” han estudiado la posibilidad de disociar ambas funciones sin hallar los resultados esperados⁹⁶.

Es bien conocido que a nivel celular, el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), activado por señales inflamatorias, y el receptor corticoideo, activado por corticoides endógenos o exógenos, tienen funciones opuestas. Mientras que el primero estimula la inflamación mediante la activación de la producción de citocinas, el segundo la inhibe. Por otro lado, ambos pueden inhibirse entre sí mediante una interacción proteína-proteína que evitaría su unión al ADN y su consiguiente transcripción⁹⁶. En un estudio en pacientes con ARDS no resuelto tratados con metilprednisolona, se produjo un progresivo incremento de la unión del receptor glucocorticoideo al NF- $\kappa\beta$ y una reducción concomitante de la unión del NF- $\kappa\beta$ al ADN y de la transcripción de TNF- α e IL-6⁹⁷.

Aunque los corticoides constituyen los inhibidores naturales más importantes, no siempre son efectivos en suprimir la inflamación sistémica severa que pone en peligro la vida del paciente. Se ha postulado que la presencia de resistencia a los corticoides inducida por la inflamación sistémica y/o un inadecuado rendimiento adrenal podrían explicar la ausencia de eficacia

hallada en estudios que utilizaron pautas de corticoides a dosis elevadas y de corta duración⁹⁶. Sin embargo, más recientemente estudios randomizados en los que se administra dosis bajas de corticoides durante períodos prolongados, encontraron beneficios en el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis jirovecii*⁹³ y en la fase fibroproliferativa del SDRA no resuelto^{93,98}. También fueron eficaces dosis bajas de corticoides en el tratamiento de la sepsis^{99,100}.

Hasta la actualidad pocos estudios han investigado el papel de los corticoides en la NAC y los resultados han sido controvertidos. En dos estudios randomizados los corticoides no aportaron beneficios en el tratamiento de la NAC. En el primero, se incluyeron de manera randomizada 30 pacientes con NAC severa a los que se administró una única dosis de hidrocortisona 10 mg/kg o placebo 30 minutos antes del antibiótico. No se demostró efecto de los corticoides sobre los niveles de TNF- α determinados en el momento del ingreso y en las 2, 6, 12 horas posteriores¹⁰¹. Tampoco influyeron sobre el curso clínico de la neumonía. En un segundo estudio se incluyeron 230 pacientes con NAC (43.7% clasificados con un PSI IV-V) a los que se administró 40 mg/d de prednisolona durante 7 días, sin encontrar diferencias en el que fue considerado el outcome principal, la mejoría clínica a los 7 días¹⁰². Sin embargo, cinco estudios, tres de ellos randomizados y uno retrospectivo, demostraron que los corticoides podían ser beneficiosos en el manejo de la NAC severa. Montón [et al] investigaron en un estudio prospectivo, el efecto de los corticoides sobre la respuesta inflamatoria en 20 pacientes ventilados, 8 con NAC y 12 con neumonía nosocomial. La respuesta inflamatoria fue atenuada en los pacientes que recibieron corticoides, tanto a nivel local con la disminución de TNF- α y del

recuento de neutrófilos en el BAL, como a nivel sistémico con la reducción de los niveles de IL-6 y proteína C reactiva en suero¹⁰³. Confalonieri [et al] en un estudio randomizado asignaron un tratamiento con hidrocortisona vs placebo a 46 pacientes con NAC severa. La hidrocortisona se administró en bolus de 200 mg de hidrocortisona seguido de una infusión de 10 mg/h durante 7 días. Los pacientes tratados con hidrocortisona mostraron una mayor reducción del cociente pO_2/FiO_2 , de la afectación radiológica, de los niveles de proteína C reactiva, del score MODS que evalúa el daño multiorgánico y de la incidencia de shock séptico tardío. Asimismo, se asoció a reducción de estancia hospitalaria y de mortalidad⁹⁶. El estudio fue finalizado precozmente después de un análisis interino que mostró menor mortalidad en el grupo tratado con corticoides. El ensayo randomizado de mayor tamaño (n=305) corresponde al grupo de Mejvis [et al] quienes hallaron que la administración de dexametasona a dosis de 5 mg /día durante los primeros 4 días de ingreso reducía la estancia hospitalaria en comparación al placebo. No observaron diferencias en cuanto a mortalidad hospitalaria o efectos adversos severos¹⁰⁴. Mikami [et al] incluyeron 31 pacientes con NAC que requirieron hospitalización, en un estudio randomizado en el que se asignó aleatoriamente 40 mg/d de prednisolona durante 3 días vs placebo. Los corticoides aceleraron la resolución de los síntomas clínicos y redujo la duración del tratamiento antibiótico endovenoso en pacientes con NAC moderada-severa. Estos efectos favorables no alcanzaron significación estadística en los pacientes con NAC leve-moderada¹⁰⁵. Finalmente, Garcia-Vidal [et al] en un estudio retrospectivo en el que fueron evaluados 308 pacientes con NAC severa, hallaron una reducción de la mortalidad en los pacientes que habían recibido simultáneamente corticoides y antibióticos¹⁰⁶.

En una revisión publicada recientemente, se analiza los resultados de la mayoría de estudios antes mencionados según el sistema de gradación de la calidad de la evidencia y la fuerza de las recomendaciones adoptado por la ATS¹⁰⁷. En la siguiente tabla se expone un resumen de dicho análisis:

Tabla 8. Estudios clínicos sobre el papel de los corticoides en la NAC¹⁰⁷.

Referencia	Diseño estudio	Selección pacientes	Regimen glucocorticoides	Outcomes	Nivel de evidencia y recomendación
Marik ⁹¹ (n=30)	Randomizado un centro	NAC severa	Hidrocortisona 10 mg/kg vs placebo 30' antes de los antibióticos	Mortalidad, curso clínico, niveles séricos de TNF- α	Recomendación débil, evidencia de moderada calidad
Confalonieri ⁸⁶ (n=46)	Randomizado multicéntrico	NAC severa	Hidrocortisona 200 mg + hidrocortisona 10 mg/h durante 7 días vs placebo	Mortalidad, curso clínico, inflamación sistémica	Fuerte recomendación, evidencia de moderada calidad
Mikami ⁹⁵ (n=31)	Randomizado abierto	NAC moderada severa	Prednisolona 40 mg/d durante 3 días vs placebo	Mortalidad, curso clínico	Recomendación débil, evidencia de baja calidad
García-Vida ⁹⁴ (n=308)	Estudio retrospectivo	NAC severa	Metilprednisolona 14.5 mg/d (o equivalente) durante 11.4 días	Mortalidad	Fuerte recomendación, evidencia de moderada calidad

A pesar de que la evidencia del efecto beneficioso de los corticoides es aún incierta, muchos clínicos reservan el tratamiento corticoideo como una terapia adyuvante en la neumonía bacteriana severa. Recientemente, en una guía de manejo clínico de la NAC se recomienda tratamiento substitutivo con corticoides en aquellos pacientes con NAC severa e insuficiencia adrenal (recomendación moderada, nivel de evidencia II)¹⁰.

Dentro del grupo de posibles agentes atenuadores de la respuesta inmunitaria también se podrían incluir las estatinas, teniendo en cuenta que en

estudios experimentales se ha demostrado que estos fármacos poseen propiedades antiinflamatorias. Dicha capacidad antiinflamatoria ha sido atribuida a un efecto pleiotrópico en la síntesis de isoprenoide que ocasiona una infraregulación de las señales inflamatorias intracelulares, conduciendo a una modulación de la respuesta inmunitaria y a una reducción de los niveles de citocinas. Asimismo, las estatinas mejoran la función endotelial y pueden modificar el balance de la coagulación hacia un estado menos protrombrótico, como el observado en la sepsis^{88,108}. En estudios retrospectivos observacionales, las estatinas redujeron la mortalidad en pacientes con infecciones severas o sepsis^{109,110}. Sin embargo, en un estudio de cohortes prospectivo no se asociaron a una disminución de la mortalidad o de ingreso en la UCI¹¹¹.

Asociaciones similares a las halladas con las estatinas se han observado con el uso previo al desarrollo de la NAC de inhibidores de la angiotensina, especialmente en cohortes japoneses con genotipos específicos para los IECA¹¹². Estos resultados no han sido corroborados en otros estudios en población caucásica¹¹³. Dado que los datos disponibles aún son controvertidos, son necesarios estudios randomizados que permitan evaluar la utilidad de las estatinas y los IECA como terapia previa o concomitante en la NAC⁸⁶.

Como ya se ha mencionado previamente, la activación del sistema de la coagulación parece ser un evento crucial en la fisiopatología de la neumonía severa. De hecho, la mortalidad en la NAC se asocia a trombocitopenia severa y a aumento del dímero-D, un marcador de coagulación intravascular y fibrinólisis. Asimismo se ha observado que una respuesta inflamatoria excesiva puede

conllevar una reducción de la proteína C, que actúa como anticoagulante soluble y enzima prefibrinolítica, conduciendo a un estado procoagulante que ha sido asociado a aumento de mortalidad en la sepsis. Estudios experimentales han mostrado que la proteína C activada (drotrecogin - α) ejerce un efecto protector en el pulmón vía anticoagulación y probablemente a través de la inhibición de la respuesta inflamatoria sistémica¹⁰⁸. En el análisis retrospectivo del ensayo *Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation Sepsis* (PROWESS), el subgrupo de pacientes con NAC y shock séptico con elevado riesgo de mortalidad (APACHE >25) tratados con proteína C activada mostraron mejor supervivencia respecto a los tratados con placebo. Este beneficio no se observó en el subgrupo de pacientes con NAC sin sepsis asociada¹¹⁴. En la valoración de estos resultados se debía tener en cuenta las limitaciones inherentes a un estudio retrospectivo. Por otro lado, destacaba un aumento del riesgo de sangrado en los pacientes tratados con proteína C activada, habiéndose reportado incrementos superiores al 10%. Por todo ello, la guía de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas Americana/ Sociedad Americana de Neumología (IDSA/ATS, 2007) sugirió que la drotrecogin alfa activada podría ser considerada únicamente en pacientes con NAC que presentan shock séptico persistente a pesar de un adecuado aporte de líquidos (recomendación débil, nivel II de evidencia)¹⁰. Más recientemente, en el año 2011, la FDA (*US Food and Drug Administration*) desaconsejó su utilización al considerar que el estudio PROWES-SEPSIS, ya finalizado, no demostraba superioridad de la proteína C activada respecto al placebo en el tratamiento de la sepsis grave.

Siguiendo la senda de la proteína C activada, se ha investigado el papel del tifacogin (rTFPI, *recombinant tissue factor pathway inhibitor*) en la sepsis

severa (OPTIMIST trial)¹¹⁵, hallándose un efecto beneficioso en el análisis del subgrupo de pacientes con NAC no tratados con heparina. No obstante, en un ensayo randomizado multicéntrico recientemente publicado (CAPTIVATE trial) los pacientes tratados con tifacogin no mostraron un mejor pronóstico respecto a los que recibieron placebo¹¹⁶.

De la misma manera, se ha valorado el papel de la heparina en el tratamiento de la NAC, ya que en algunos ensayos clínicos en pacientes con sepsis los pacientes tratados con heparina tendieron a mostrar mejor pronóstico respecto a los que no recibieron tratamiento anticoagulante. Sin embargo, este efecto beneficioso se atribuyó a una mayor gravedad de los pacientes tratados con heparina y a una posible prevención de eventos cardiovasculares agudos. En todo caso, en la *SCAP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines* se recomienda la profilaxis del tromboembolismo pulmonar en los pacientes con NAC⁸⁶.

También en la línea de la atenuación de la respuesta inmunitaria ha sido investigada la utilidad de los inhibidores de la prostaglandina en el tratamiento de la NAC (indometacina, ácido acetilsalicílico). En modelos animales, estos fármacos han mostrado la capacidad de reducir el shunt intrapulmonar presente en la neumonía¹¹⁷. Se postula que este efecto se debería a la reversión por parte de los inhibidores de la prostaglandinas de la vasoconstricción pulmonar inducida por la hipoxia. Este efecto beneficioso sobre el intercambio gaseoso también ha sido observado en pacientes con neumonía, especialmente en aquellos con

mayor grado de hipoxemia^{118,119}. De momento se desconoce si estos efectos podrían influir en la mortalidad.

Anteriormente se ha comentado el potencial efecto inmunomodulador de los diferentes antibióticos, siendo probablemente los macrólidos los antibióticos más estudiados en esta faceta. Se ha descrito su capacidad para modular la actividad de las células inflamatorias conduciendo a una modificación de la función de los leucocitos, de la expresión de citocinas y de producción de moco. En una primera fase, estos agentes ejercerían una actividad directamente antibactericida mediante la estimulación de la desgranulación de los neutrófilos y la fagocitosis. Posteriormente a la infección aguda, contribuirían a la resolución de la respuesta inflamatoria inhibiendo los neutrófilos activados por citocinas o lipopolisacáridos y mejorando la función de los macrófagos, lo que resultaría en una mejor retirada de los detritus celulares. Los macrólidos también podrían ser beneficiosos al reducir la carga bacteriana con menor lisis de la pared bacteriana que los betalactámicos, de manera que se produciría una estimulación más gradual del sistema inmune, lo que prevendría la extensión de la respuesta inflamatoria. El posible efecto beneficioso de los macrólidos sobre el pronóstico de la neumonía es aún incierto, aunque algunos estudios han mostrado una mejoría en el pronóstico de la NAC¹²⁰⁻¹²², especialmente en la neumonía neumocócica bacteriémica severa, este efecto no ha sido hallado en otros trabajos^{123,124}.

Es conocido que durante el desarrollo de la NAC es necesaria la actividad de citocinas anti-inflamatorias como IL-4, IL-10, el antagonista del receptor de IL-1 y los receptores solubles de TNF para limitar la respuesta defensiva del

huésped. Consecuentemente, algunos de estos mediadores moleculares han sido investigados como posibles dianas terapéuticas con resultados variables. Mientras que la administración de inhibidores de las citocinas proinflamatorias (anticuerpos, receptores solubles y citocinas antiinflamatorias) tiende a ser beneficiosa en modelos experimentales de toxicidad sistémica generada por la administración de endotoxinas, en estudios con infecciones más localizadas la inhibición puede ser perjudicial precipitando la extensión de la infección e incrementando la mortalidad, especialmente en ausencia de tratamiento antibiótico contra el germen causal de la infección¹²⁵. Las estrategias anti-TNF, en las que se incluyen los anticuerpos monoclonales quiméricos y los receptores solubles del TNF (sTNF-r), han sido las más estudiadas, aunque sin hallar beneficios. En modelos experimentales su utilización conlleva un peor pronóstico en diferentes tipos de infección. En un estudio clínico con receptor soluble de TNF en shock séptico, se constató un efecto claramente desfavorable con una mortalidad dosis respuesta dependiente¹²⁶. En otro estudio, el tratamiento con anti-TNF en pacientes con sepsis no se asoció a efectos adversos, pero no influyó sobre la mortalidad¹²⁷. La utilización de IL-10 recombinante parece obtener resultados más positivos. En estudios experimentales en sepsis¹²⁸ parece ejercer un papel protector, pero hasta la actualidad no se dispone de estudios clínicos.

4. HIPÓTESIS

La determinación del perfil evolutivo de los niveles de citocinas en sangre en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad, podría ser un método sencillo para monitorizar la eficacia de la respuesta inflamatoria en la NAC y el pronóstico de dicha patología.

La administración de corticoides, antes del inicio de la terapia antibiótica y seguida de una pauta descendente de los mismos, podría prevenir una excesiva respuesta inflamatoria y mejorar el pronóstico de los episodios más graves de la neumonía adquirida en la comunidad.

Ante un determinado agente causal es posible que los diversos antibióticos efectivos pudieran comportarse de modo distinto en cuanto a la inmunomodulación de la respuesta inflamatoria.

5. OBJETIVOS DE LA TESIS

1. Determinar los cambios secuenciales en la expresión de las citocinas pro- y anti-inflamatorias en sangre durante la neumonía adquirida en la comunidad.
2. Comparar la evolución a lo largo del tiempo de los niveles sistémicos de citocinas en pacientes con neumonía neumocócica tratados con monoterapia (β -lactámico) o terapia combinada (β -lactámico más fluoroquinolona).
3. Valorar el impacto de los corticoides como terapia adyuvante en la necesidad de ventilación mecánica en el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad.

6. RESULTADOS

❖ **Fernández-Serrano S, Dorca J, Coromines M, Carratalà J, Gudiol F and Manresa F. et al. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia. Clin Diagn Lab Immunol 2003; 10:813–820.**

- Los niveles iniciales de IL-6 e IL-10 al inicio del tratamiento tendieron a ser superiores en las neumonías causadas por *Legionella pneumophila* respecto a las causadas por *S. pneumoniae*, pero estas diferencias no alcanzaron significación estadística.
- A las 24 horas de ingreso, los niveles de IL-6 y IL-10 fueron más elevados en las neumonías neumocócicas respecto a las neumonías por *Legionella*, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en el caso de IL-10.
- Los niveles de IL-6 e IL-10 fueron más elevados en el momento del ingreso en los episodios neumocócicos bacteriémicos respecto a los no bacteriémicos, alcanzando estas diferencias significación estadística. Asimismo, en los episodios no bacteriémicos se produjo una disminución estadísticamente significativa de los niveles de TNF- α a las 48 horas y de IL-6 e IL-10 a las 72 horas.

- Desde el inicio, las concentraciones de citocinas tendieron a ser más elevadas en los pacientes que requirieron ventilación mecánica. A las 24 horas del ingreso, los niveles de TNF- α , IL-6 e IL-8 fueron significativamente más elevados en los pacientes que requirieron ventilación respecto a aquellos que no la requirieron. En contraste con los pacientes ventilados, los pacientes no ventilados mostraron una reducción significativa de los niveles de TNF- α a las 24 horas de ingreso, de IL-6 a las 48 horas y de IL10 a las 72 horas.

- Los niveles iniciales de citocinas fueron más elevados en los no supervivientes respecto a los supervivientes, sin embargo, estas diferencias no alcanzaron diferencias significativas. Sí resultó estadísticamente significativa la mayor disminución de los niveles de IL-6 e IL-10 a las 48 horas del ingreso en los pacientes supervivientes respecto a los no supervivientes.

❖ **Padrones S, Garcia-Vidal C, Fernández-Serrano S, Fernández A, Masuet C, Carratalà J, Coromines M, Ardanuy C, Gudiol F, Manresa F, Dorca J: Impact of antibiotic therapy on systemic cytokine expression in pneumococcal pneumonia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010, 29:1243-1251.**

- Las concentraciones de IL-6, IL-8 e IL-10 en sangre descendieron rápidamente durante los primeros días del ingreso, en concordancia con la defervescencia clínica.
- Los niveles de IL-6 fueron más elevados en los pacientes con peor pronóstico, evaluado este en función de la necesidad de ingreso en la UCI y la mortalidad.
- Las concentraciones de IL-6 descendieron más rápidamente durante las primeras 48 horas de tratamiento en los pacientes tratados con terapia antibiótica combinada.

❖ **Fernández-Serrano S, Dorca J, Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé, Carratalà J, Fernández-Agüera A, Corominas M, Padrones S, Gudiol F and Manresa F. Effect of corticosteroids on the clinical course of community-acquired pneumonia : a randomized controlled trial. Critical Care 2011, 15 :R96.**

- Los pacientes que recibieron tratamiento con metilprednisolona mostraron una mejor evolución del cociente pO_2/FiO_2 , una disminución más rápida de la fiebre y una mayor mejoría radiológica al séptimo día de tratamiento. El tiempo de resolución de la neumonía (TRM) fue asimismo más corto en este grupo.
- La duración de la estancia en la UCI, requirieron ingreso en la UCI tres pacientes de cada grupo, tendió a ser superior en el grupo placebo respecto al grupo tratado con metilprednisolona (10.5 vs 6.5 días).
- Se indicó ventilación mecánica en seis pacientes: cinco en el grupo placebo y uno en el grupo corticoideo. La duración de la ventilación mecánica fue de 13 días (rango intercuartil: 7-26) para el grupo placebo y de 3 días para el único paciente del grupo corticoideo tratado con ventilación mecánica. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

- Respecto a la respuesta inflamatoria, las concentraciones de IL-6 disminuyeron más rápidamente a las 24 horas de tratamiento en el grupo corticoideo. Los niveles de PCR mostraron una evolución similar.
- No hubo diferencias en cuanto a mortalidad entre ambos grupos.

7. DISCUSIÓN

El objetivo de esta tesis era demostrar que es posible monitorizar la respuesta inflamatoria que tiene lugar durante la neumonía adquirida en la comunidad y que dicha respuesta puede ser influenciada por los antibióticos utilizados en su tratamiento así como modulada mediante un tratamiento adyuvante con corticoides.

La primera cuestión a resolver hace referencia a cual es la muestra más idónea para analizar la respuesta inflamatoria en la NAC: pulmonar o sanguínea. Dado que, al menos inicialmente, la respuesta inflamatoria se encuentra compartimentalizada en el pulmón, algunos autores han optado por evaluar los mediadores inflamatorios a nivel del líquido obtenido en el lavado broncoalveolar (BAL)⁵⁻⁸, al considerar que esta muestra reflejaría más fielmente lo que acontece en el pulmón que el análisis de dichos mediadores en sangre. Sin embargo, la dificultad que comporta la realización del BAL en un paciente no intubado con insuficiencia respiratoria y la posibilidad de complicaciones derivadas de este procedimiento (fiebre y empeoramiento de la hipoxemia), llevó a plantear el estudio de la respuesta inflamatoria en suero. Además, algunos autores habían hallado una correlación entre los niveles de IL-6 en el BAL y en el suero de pacientes con NAC⁵.

Según los resultados de esta tesis las muestras de sangre venosa permiten detectar niveles suficientes de la mayoría de citocinas en los pacientes con NAC. Inicialmente, algunos estudios habían abogado por una compartimentalización de la respuesta inflamatoria en el pulmón, al no hallar diferencias entre pacientes e individuos control en relación a los niveles en suero

de algunas de las citocinas estudiadas^{5,6}. Sin embargo, estos hallazgos podrían atribuirse a una menor severidad de los episodios de neumonía de los estudios mencionados respecto a los de esta tesis, dado que en estudios posteriores en los que fueron incluidos episodios más severos de NAC^{58,65,129}, en algunos casos asociados a SDRA o SIRS^{7,9,70}, los niveles de citocinas en suero fueron significativamente superiores en los pacientes respecto a los individuos control, coincidiendo con los resultados de la tesis.

En relación al origen de la muestra sanguínea, arterial o venosa, se planteaba que la primera podía reflejar más fielmente lo que acontecía en el pulmón. Los resultados de la tesis permiten concluir que la sangre venosa es adecuada para monitorizar la respuesta inflamatoria generada en la neumonía.

Con la intención de monitorizar la respuesta inflamatoria durante la NAC se realizó una determinación seriada de citocinas en suero. Probablemente la variación dependiente del tiempo de IL-6, IL-8 e IL-10 se relaciona con la evolución clínica de la neumonía, mientras que la ausencia de cambios en el caso de TNF- α e IL-1 β se podría atribuir a su implicación en la fase inicial de la respuesta inflamatoria⁷⁶. La liberación de TNF- α e IL-1 β sería más precoz, más compartimentalizada en el pulmón y probablemente de más corta duración en relación a las otras citocinas, habiéndose ya normalizado o disminuido en el momento de la llegada del paciente al hospital.

Los resultados de esta tesis sugieren que el perfil de respuesta inflamatoria podría variar según la etiología de la neumonía. Inicialmente, las

concentraciones de citocinas tendieron a ser más elevadas en los episodios causados por *Legionella pneumophila*. Sin embargo, a las 24 horas, los niveles de citocinas aumentaron en las neumonías neumocócicas mientras que descendieron en las causadas por *Legionella pneumophila*. Como ya se ha mencionado anteriormente, los componentes de la pared celular del *S. pneumoniae* actúan como potentes inductores de la respuesta inflamatoria¹³⁰. El proceso de lisis de la pared bacteriana que sigue a la administración del antibiótico conllevaría la liberación de componentes de la pared celular al torrente sanguíneo y el desencadenamiento de una exacerbación de la respuesta inflamatoria en la fase inicial de la terapia antibiótica. Por el contrario, la *L. pneumophila* estimularía una liberación de citocinas de naturaleza diferente, y probablemente más moderada, como mecanismo adaptativo para facilitar su supervivencia intracelular^{78,131,132}.

La bacteriemia representa la diseminación de la infección desde el compartimento pulmonar hacia el nivel sistémico y se asocia a un mayor riesgo de mortalidad. Reflejando esta situación, la respuesta inflamatoria fue más intensa y más prolongada en los episodios neumocócicos bacteriémicos en relación a los no bacteriémicos. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios^{130,133}.

Entre los objetivos de la tesis se incluía estudiar el impacto del tratamiento antibiótico sobre la respuesta inflamatoria en la neumonía neumocócica. Los resultados de la tesis muestran que la terapia combinada (β -lactámico y quinolona) produjo un descenso más rápido de las concentraciones

de IL-6 a las 48 horas de tratamiento. Este es un dato relevante, teniendo en cuenta la relación hallada entre niveles elevados de IL-6 en suero y peor pronóstico de la neumonía. No obstante, el posible efecto de la terapia combinada sobre el pronóstico en la neumonía neumocócica es aún un tema controvertido. Recientemente, algunos estudios^{120-122,134} han encontrado que la terapia combinada podría reducir la mortalidad en los casos de neumonía neumocócica severa. Waterer [et al] y Baddour [et al] realizaron dos estudios retrospectivos en el que fueron revisados 225 y 844 episodios de neumonía neumocócica bacteriémica respectivamente^{120,122}, incluyéndose en el análisis de resultados diferentes combinaciones antibióticas. En ambos estudios la monoterapia se asoció a un riesgo significativamente superior de mortalidad en relación a la terapia combinada. En otro estudio retrospectivo, la combinación β -lactámico-macrólido disminuyó la mortalidad en pacientes con neumonía neumocócica bacteriémica¹²¹. Sin embargo, en un estudio prospectivo multicéntrico en el que fueron incluidos 529 pacientes con neumonía neumocócica que requirieron ingreso en la UCI, los autores concluyen que la terapia combinada no parece mejorar la supervivencia de todos los pacientes que ingresan en la UCI por neumonía neumocócica, a excepción de un subgrupo de pacientes con shock séptico¹³⁴.

Las diferencias observadas en el patrón de respuesta inflamatoria entre ambos grupos podrían atribuirse a la diferente interacción de los antibióticos utilizados con el sistema inmune. La acción de los β -lactámicos sobre la pared celular provoca la liberación de componentes de dicha pared que actúan como potentes inductores de la respuesta inflamatoria. Por el contrario, las

fluoroquinolonas inhiben la producción de determinadas citocinas inflamatorias⁸²⁻
⁸⁴. Este efecto inmunomodulador de las fluoroquinolonas contribuiría por tanto a prevenir una excesiva respuesta inflamatoria en los pacientes tratados con terapia combinada. Además, al añadir la fluoroquinolona al β -lactámico, la lisis microbiana podría ser más rápida y acortar la exposición del huésped a los productos bacterianos, con la consiguiente reducción de la activación inflamatoria. Hasta la actualidad, no se había estudiado el posible efecto beneficioso de las fluoroquinolonas sobre la respuesta inflamatoria cuando se combinan con un β -lactámico en el tratamiento de la neumonía neumocócica. Los resultados de la tesis sugieren que las fluoroquinolonas mantienen su potencial efecto antiinflamatorio e inmunomodulador cuando se combinan con un β -lactámico.

Diversos estudios han reportado la asociación entre una respuesta inflamatoria excesiva y el mal pronóstico de la NAC^{8,65,69,70,130,133,135}. Los resultados de esta tesis, de acuerdo con los datos publicados por otros autores¹³⁵, muestran que las concentraciones iniciales de citocinas fueron superiores y se mantuvieron elevadas durante más tiempo en los pacientes no supervivientes respecto a los supervivientes. De hecho, las concentraciones de IL-6 e IL-8 el segundo día de ingreso predijeron mortalidad con una exactitud razonable. Asimismo, un recrudecimiento de los niveles de citocinas anunció un fatal desenlace. Recientemente se ha hallado que la adición de marcadores biológicos como la proteína C reactiva a las escalas de gravedad de la neumonía (PSI, CURB, CURB-65) mejora la predicción de mortalidad a los 30 días¹³⁶. De la misma manera, se debería investigar si IL-6 e IL-8 podrían constituir asimismo

un complemento de dichas escalas y mejorar la identificación de los pacientes con peor pronóstico.

Dada la evidencia disponible sobre la correlación entre una excesiva respuesta inflamatoria del huésped y la mala evolución de la neumonía, uno de los objetivos principales de esta tesis fue demostrar que la asociación de corticoides como terapia adyuvante anti-inflamatoria en el tratamiento de la NAC podría resultar beneficiosa. A diferencia de otros estudios en los que los corticoides no influyeron sobre el curso clínico^{101,102}, los resultados de esta tesis muestran que en asociación con la terapia combinada (levofloxacino y ceftriaxona) los corticoides mejoran la evolución de varias variables clínicas como el cociente pO_2/FiO_2 , la resolución radiológica y la escala del “time to resolution of morbidity” (TRM)¹³⁷. La escala TRM establece el tiempo de curación de la neumonía basándose en la valoración de determinados signos clínicos. Se define como el número de días transcurridos entre el momento de la randomización y la normalización del último de los signos clínicos: mejoría o estabilidad radiológica; frecuencia respiratoria ≤ 24 respiraciones/minuto en tres tomas consecutivas realizadas cada ocho horas, con ausencia de determinación aislada de frecuencia respiratoria ≥ 30 respiraciones/minuto; temperatura $\leq 37.9^\circ C$ en tres tomas consecutivas realizadas cada 8 horas; normalización de la oxigenación definida como $PaO_2/FiO_2 \geq 285$ o $SatO_2 \geq 90\%$, y en caso de pacientes con antecedente previa de hipoxemia severa, recuperación de un 10% de su PaO_2/FiO_2 basal.

El efecto beneficioso de los corticoides sobre el curso clínico se reflejó asimismo en el comportamiento de los marcadores inflamatorios. Las concentraciones en sangre de IL-6 y proteína C reactiva fueron inferiores y disminuyeron más rápidamente en los pacientes tratados con metilprednisolona. Marik [et al] no hallaron este efecto sobre la respuesta inflamatoria cuando analizaron los niveles de TNF- α en pacientes con NAC severa a los que se administró una dosis única de hidrocortisona 30 minutos antes del antibiótico¹⁰¹. Estas diferencias podrían ser debidas en parte al marcador inflamatorio analizado, ya que como se ha comentado previamente, los resultados de la tesis muestran que TNF- α no varió en el tiempo, y por consiguiente, no se pudo relacionar con la evolución de la neumonía. Por otro lado, tanto los resultados de esta tesis como los de otros autores^{69,76}, establecen IL-6 como la citocina que mejor se correlaciona con el pronóstico en la NAC. Se ha postulado que la determinación de PCR, por su menor coste, podría sustituir a otros marcadores inflamatorios como la IL-6¹³⁸, dado que al igual que en esta tesis, en varios estudios se ha demostrado su valor predictivo de mortalidad¹³⁶ y de respuesta al tratamiento¹³⁸. Eventualmente, podría plantearse la PCR como marcador de respuesta a la terapia adyuvante con corticoides.

La corta duración del tratamiento corticoideo también podría influir en la falta de efecto de los corticoides sobre la respuesta inflamatoria. La presencia de resistencia a los corticoides inducida por la inflamación sistémica y/o un inadecuado rendimiento adrenal han sido invocadas como posibles razones de la ausencia de eficacia en los estudios que administraron corticoides a dosis elevadas y durante una corta duración de tiempo⁹⁶. Coincidiendo con los

resultados de esta tesis, estudios randomizados en los que se administra dosis bajas de corticoides durante períodos prolongados encontraron beneficios en el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis jirovecii*⁹³, en el ARDS no resuelto⁹⁸ y en la NAC severa⁹⁶. Más recientemente, Snijerds [et al] en un estudio randomizado y doble ciego, administran diariamente 40 mg de hidrocortisona durante 7 días vs placebo en combinación con el tratamiento antibiótico. Concluyen que los corticoides no mejoran el pronóstico de la NAC¹⁰². Sin embargo, en relación a esta tesis, se incluye menor porcentaje de episodios severos, el número de casos de *Legionella pneumophila* fue muy bajo (sólo un caso recibió corticoides) y el régimen antibiótico administrado no fue homogéneo. De hecho, los autores no descartan un posible beneficio en casos más severos.

Actualmente, la dosis y duración del tratamiento corticoideo sigue siendo materia de debate. En esta tesis, optamos por prescribir un bolus de metilprednisolona 30 minutos antes de la administración de la primera dosis de antibiótico, con el objetivo de interferir en la intensificación de la respuesta inflamatoria desencadenada por la lisis bacteriana. Este bolus inicial se seguía de una pauta descendente de nueve días emulando la práctica clínica en el tratamiento de la EPOC. Aunque es posible que dosis inferiores de corticoides obtengan resultados similares, se consideró justificado utilizar dosis más elevadas hasta demostrar el efecto beneficioso de los corticoides en la NAC. Recientemente, se ha planteado la posibilidad de un rebote de la respuesta inflamatoria al retirar los corticoides por su efecto sobre los neutrófilos y los macrófagos¹⁰⁶. Este efecto se corroboraría con la presencia de niveles elevados

de PCR en los pacientes tratados con corticoides después de una rápida caída inicial¹⁰². En caso de confirmarse esta hipótesis, una pauta descendente como la utilizada en esta tesis podría prevenir esta circunstancia. Probablemente la dosis y la duración del tratamiento son más importantes que las características de la molécula elegida. Otros autores han optado por la hidrocortisona^{96,101,103}, aunque a dosis variables. Más recientemente, Mejvis et [al] en un ensayo randomizado en pacientes con NAC, comparan una pauta de dexametasona de 5 mg/día versus placebo administrados durante 4 días. Los autores reportan una reducción de la estancia hospitalaria en el grupo tratado con corticoides¹³⁹.

El principal objetivo de esta tesis fue demostrar una reducción en la necesidad de ventilación mecánica en los pacientes tratados con corticoides. Se prefirió este objetivo en lugar de la mortalidad, por ser esta última una variable más multifactorial que el desarrollo de insuficiencia respiratoria severa. Los resultados de la tesis muestran que la ventilación mecánica fue necesaria en uno de los pacientes tratados con metilprednisolona en comparación con cinco casos en el grupo control. Asimismo, la duración del ingreso en una unidad de cuidados intensivos fue inferior en el grupo corticoideo. Sin embargo, estas diferencias no alcanzaron significación estadística.

En definitiva, las concentraciones iniciales de citocinas fueron superiores y se mantuvieron más tiempo elevadas en los pacientes que evolucionaron desfavorablemente. Estos resultados sugieren que, al menos hipotéticamente, una excesiva respuesta inflamatoria en la NAC severa podría ser responsable del fatal desenlace que tiene lugar en algunos pacientes. En relación a la posible

modulación de esta respuesta inflamatoria, la terapia antibiótica combinada se asoció a una reducción más rápida de los mediadores inflamatorios en la neumonía neumocócica. Asimismo, en pacientes que requirieron ingreso por NAC con insuficiencia respiratoria severa y extensa condensación radiológica, la terapia adyuvante con metilprednisolona disminuyó la respuesta inflamatoria y tendió a reducir la necesidad de ventilación mecánica.

Teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, futuras investigaciones sobre la posible aplicación clínica de la determinación de mediadores de la inflamación en la NAC podrían ser de utilidad en la detección precoz de aquellos casos que presentaran un peor pronóstico y en el desarrollo de terapéuticas dirigidas a un control más efectivo de la respuesta inflamatoria en dichos casos.

8. CONCLUSIONES

1. Es posible detectar la presencia de las citocinas estudiadas en sangre venosa, sin embargo sólo las citocinas IL-6, IL-8 e IL-10 fueron detectadas en sangre en todos los pacientes con neumonía en el momento del ingreso, con un rápido descenso a las 48 horas que se correlacionó con la defervescencia clínica.
2. Las concentraciones iniciales de citocinas fueron superiores y se mantuvieron más tiempo elevadas en los pacientes que evolucionaron desfavorablemente.
3. En la neumonía neumocócica, la terapia combinada inicial con β -lactámicos y fluoroquinolonas produjo un descenso más rápido de IL-6 en las primeras 48 horas de tratamiento.
4. En pacientes con NAC que ingresaron con insuficiencia respiratoria y una extensa afectación radiológica, la administración de metilprednisolona en combinación con el tratamiento antibiótico se asoció a:
 - a) Mejoría de la evolución del cociente pO_2/FiO_2 , disminución más rápida de la fiebre y mayor mejoría radiológica al séptimo día de tratamiento.
 - b) Disminución más rápida de los niveles de IL-6 y PCR en las primeras 24 horas de tratamiento.
 - c) Una tendencia a la reducción de la necesidad de ventilación mecánica.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Cronin L, Cook DJ, Carlet J, et al. Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med* 1995; 23: 1430–1439.
2. Lefering R, Neugebauer EA. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. *Crit Care Med* 1995; 23: 1294–1303.
3. Meduri GU, Headley S, Golden E, et al. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998;280:159-65.
4. Bozzette S. A et al. A controlled trial of early adjunctive treatment with corticosteroids for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. *New Engl J Med* 1990; 333 (21):1451-1457.
5. Dehoux, M. Compartmentalized Cytokine Production within the Human Lung in Unilateral Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:710-6.
6. Boutten, A. Compartmentalized IL-8 and elastase release within the human lung unilateral pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 336-342.
7. Shutte, H et al. Bronchoalveolar and systemic cytokine profile in patients with ARDS, severe pneumonia and cardiogenic pulmonary edema. *Eur Respir J* 1996; 9:1858-1867.
8. Monton C, Torres A, El-Ebiary M, Filella X, Xaubet A, de la Bellacasa J. Cytokine expression in severe pneumonia: a bronchoalveolar lavage study. *Crit Care Med* 1999;27 (9):1745-53.
9. Glynn P, Coakley R, Kilgallen I, Murphy N, O' Neill S. Circulating interleukin 6 and interleukin 10 in community acquired pneumonia. *Thorax* 1999; 54:51-55.
10. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Barlett JG, Campbell GD, Dean NC; Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Niederman MS, Torres A, Whitney CG: Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007; 44 (Suppl 2): S27-72.

11. National Center for Health Statistics, Health, United States, 2006, with chartbook of trends in the health of American. Available at: <http://www.cdc.gov/nchs/data/hs/hs06.pdf>. Accessed 17 January 2007.
12. Almirall J, Bolívar I, Vidal J, Sauca G, Coll P, Niklasson B, et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *Eur Respir J* 2000; 15: 757-63.
13. Monge Vicente, San-Martín, González Antonio. The burden of community-acquired pneumonia in Spain. *European Journal of Public Health* 2001; 11: 362-364.
14. Ewig S, Birkner N, Strauss R, Schaefer E, Pauletzki J, Bischoff H, Schraeder P, Welte T, Hoeffken G. New perspectives on community-acquired pneumonia in 388.406 patients. Results from a nationwide mandatory performance measurement programme in healthcare quality. *Thorax* 2009;64:1052-1069.
15. Fine MJ, Smith MA, Carson CA, Mutha SS, Sankey SS, Weissfeld LA, Kapoor WN. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. *JAMA* 1996; 275: 134-141.
16. Carratalà J, Mykietiuk A, Fernández-Sabé N, Suárez C, Dorca J, Verdager et al. Health care-associated pneumonia requiring hospital admission: epidemiology, antibiotic therapy, and clinical outcomes. *Arch Intern Med* 2007;167:1393-9.
17. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Crit Care Med* 2005;171:388-416.
18. Marrie TJ, Bartlett JG, Thorner AR. Epidemiology, pathogenesis and microbiology of community-acquired pneumonia. UpToDate. URL:<http://www.utdol.com/home/index.html>.
19. Ruiz M, Ewing S, Marcos MA, Martínez JA, Arancibia F, Mensa J, et al. Etiology of community-acquired pneumonia: impact of age, comorbidity, and severity. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:397-405.
20. de Roux A, Ewing S, Garcia E, Marcos MA, Mensa J, Lode H, et al. Mixed community-acquired pneumonia in hospitalised patients. *Eur Respir J* 2006;27:795-800.

21. Fernández-Sabé N, Carratalà J, Rosón B, Dorca J, Verdaguer R, Manresa F, et al. Community-acquired pneumonia in very elderly patients: causative organisms, clinical characteristics and outcomes. *Medicine (Baltimore)* 2003;82:159-69.
22. Torres A, Dorca J, Zalacaín R, Bello S, El-Elbiary M, Molinos L, et al. Community-acquired pneumonia in chronic obstructive pulmonary disease: a Spanish multicenter study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1456-61.
23. Carratalà J, Fernández-Sabé N, Ortega L, Castellsagué X, Rosón B and Dorca J. Outpatient care compared with hospitalization for community-acquired pneumonia: A randomized trial in low-risk patients. *Ann Intern Med* 2005; 142:165-172.
24. Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé N, Carratalà J, Diaz V, Verdaguer V, Dorca J et al. Early mortality in patients with community-acquired pneumonia: causes and risk factors. *Eur Respir J.* 2008; 32:733-739.
25. CDC <http://www.cdc.gov/h1n1flu> (accessed may 2010). Druid Hills, GA:Centers for Disease Control and prevention. 2010.
26. Falguera M, Carratalà J, Ruiz-Gonzalez A, Garcia-Vidal C, Gazquez I, Dorca J, et al. Risk factors and outcome of community-acquired pneumonia due to gram-negative bacilli. *Respirology* 2009; 14:105-111.
27. de Roux A, Marcos MA, Garcia E, et al. Viral community-acquired pneumonia in non-immunocompromised adults. *Chest* 2004;125:1343-51.
28. Templeton KE, Schelting SA, van den Eeden WC, Graffelman AW, van den Broek PJ, Claas EC. Improved diagnosis of the etiology of community-acquired pneumonia with real-time polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 2005; 41:345-51.
29. Falguera M, Sacristan O, Nogues A, et al. Non-severe community-acquired pneumonia: correlation between cause and severity or comorbidity. *Arch Intern Med* 2001;161:1866-72.
30. McQuillan P, Pilkington S, Allan A, Taylor B, Short A, Morgan G, et al. Confidential inquiry into quality of care before admission to intensive care. *BMJ.* 1998;316:1853-8.
31. Fine MJ, Hough LJ, Medsger AR, et al. The hospital admission decision for patients with community-acquired pneumonia: results from the

- pneumonia Patient Outcomes Research Team cohort study. *Arch Intern Med* 1997;157:36-44.
32. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DE, et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med*. 1997;336:243-50.
 33. Lim WS, Van der Eerden MM, Laing R, Boersma WG, Karalus N, Town GI, et al. Defining community-acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax*. 2003;58:377-82.
 34. Man SY, Lee N, Ip M, Antonio GE, Chau SS, Mak P, et al. Prospective comparison of three predictive rules for assessing severity of community-acquired pneumonia in Hong Kong. *Thorax* 2007;62:348-53.
 35. Buising KL, Thursky KA, Black JF, MacGregor L, Street AC, Kennedy MP, et al. A prospective comparison of severity scores for identifying patients with severe community-acquired pneumonia:reconsidering what is meant by severe pneumonia. *Thorax* 2006; 61:419-24.
 36. Houck PM, Bratzler DW, Nsa W, Ma A, and Bartlett JG. Timing of antibiotic administration and outcomes for Medicare patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Arch Intern Med* 2004; 164: 637-644.
 37. Meehan TP, Fine MJ, Krumholz HM, Scinto JD, Galusha DH, Mockalis JT et al. Quality of care, process, and outcomes in elderly patients with pneumonia. *JAMA* 1997; 278:2080-2084.
 38. Restrepo MI, Mortensen EM, Velez JA, Frei C, and Anzueto A. A comparative study of community-acquired pneumonia patients admitted to the ward and the ICU. *Chest* 2008; 133: 610-617.
 39. Phua J, Ngerng WJ, Lim TK. The impact of delay in intensive care unit admission for community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2010;36:826-833.
 40. Charles P.G, Wolfe R, Whitby M, Fine MJ, Fuller Aj, Stirling R, et al. SMART-COP: A tool for predicting the need for intensive respiratory or vasopressor support in community-acquired pneumonia. *Clin Infec Dis* 2008; 47: 375-384.

41. España PP, Capelastegui A, Gorordo I, Esteban C, Oribe M, Ortega M, et al. Development and validation of a clinical prediction rule for severe community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1249-1256.
42. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M. et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: Cluster-randomised, single blinded intervention trial. *Lancet* 2004; 363:600-607.
43. Muller F, Christ-Crain M, Bregenzer T, Krause M, Zimmerli W, Mueller B et al. Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia: A prospective cohort trial. *Chest* 2010; 138 (1):121-124.
44. Masiá M, Gutierrez F, Shum C, Padilla S, Navarro JC, Flores E, et al. Usefulness of procalcitonin levels in community-acquired pneumonia according to the patients outcome research team pneumonia severity index. *Chest* 2005; 128:2223-2229.
45. Krugger S, Ewing S, Martre R, Papassotiriou J, Richter K and von Baum, H. Procalcitonin predicts patients at low risk of death from community-acquired pneumonia across all CRB-65 classes. *Eur Respir J* 2008; 31:349-355.
46. Almirall J, Bolivar I, Toran P, Pera G, Boquet X, Balanzó X et al. Contribution of C-reactive protein to the diagnosis and assesment of severity of community-acquired pneumonia. *Chest* 2004; 125:1335-1342.
47. Smith RP, Lipworth BJ, Cree IA, Spiers EM and Winter JH. C-reactive protein. A clinical marker in community – acquired pneumonia. *Chest* 1995; 108:1288-1291.
48. Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest* 1999; 115:464-74.
49. Roson B, Carratalà J, Fernández-Sabé N, Tubau F, Manresa F, Gudiol F. Causes and factors associated with early failure in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *Arch Intern Med* 2004; 164:502-8.

50. Normativa de la neumonía adquirida en la comunidad. Sociedad española de neumología y cirugía torácica (SEPAR). Actualización septiembre del 2010.
51. Rosón B, Carratalà J, Verdaguer R, Dorca J, Manresa F and Gudiol. Prospective study on the usefulness of sputum gram stain in the initial approach to community-acquired pneumonia patients requiring hospitalization. *Clin Infect Dis* 2000; 31:869-874.
52. Musher DM, Montoya R and Wanahita A. A diagnostic value of microscopic examination of gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2004; 39 (2): 165-169.
53. Smith MD, Derrington P, Evans R, et al. Rapid diagnosis of bacteriemic pneumococcal infections in adults by using the BINAX NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test: a prospective, controlled clinical evaluation. *J Clin Microbiol* 2003;41:2810-3.
54. Bartlett JG. Is activity against “atypical” pathogens necessary in the treatment protocols for community-acquired pneumonia? Issues with combination therapy. *CID* 2008; 47:suppl3:S232-6.
55. Smith MD; Sheppard CL, Hogan A, et al. Diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* infections in adults with bacteriemia and community-acquired pneumonia: clinical comparison of pneumococcal PCR and urinary antigen detection. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1046-9.
56. Helbig, JH, Uldum SA, Bernander S, Lück PC, Wewalka G, Abraham B, et al. Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial Legionnaires’ Disease. *J Clin Microbiol* 2003; 41(2):838-840.
57. Domínguez J, Gali N, Matas L, Pedroso P, Blanco S, Gimenez M, et al. PCR detection of *Streptococcus pneumoniae* DNA in serum samples for pneumococcal pneumonia diagnosis. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7:164-6.
58. Puren A, et al. Patterns of cytokine expression in community-acquired pneumonia. *Chest* 1995; 107/5:1342-1348.
59. Wunderink RG, Waterer GW. Update in Pulmonary Infections 2010. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184:186-190.

60. Towes GB. Chapter "Host defense against microbes" Cytokines in pulmonary diseases. Lung biology in health and disease. Edited by Steve Nelson and Thomas Martin. Ed. Marcel Dekker, Inc. Vol 141: 1-10. New York 2000.
61. O'Regan A, Center DM. Chapter "Cytokines in cell-mediated immune responses". Cytokines in pulmonary diseases. Lung biology in health and disease. Edited by Steve Nelson and Thomas Martin. Ed. Marcel Dekker, Inc. Vol 141:83-115. New York 2000.
62. Ahmed Qanta A.A, Niederman MS. Chapter "Cytokines and Host Defense". Cytokines in pulmonary diseases. Lung biology in health and disease. Edited by Steve Nelson and Thomas Martin. Ed. Marcel Dekker, Inc. Vol 141: 481-504. New York 2000.
63. Nelson S, Bagby GJ, Mason CM and Summer WR. Chapter "Cytokines and the antibacterial defenses of the lung". Cytokines in pulmonary diseases. Lung biology in health and disease. Edited by Steve Nelson and Thomas Martin. Ed. Marcel Dekker, Inc. Vol 141:131-154. New York 2000.
64. Nelson S, Bagby GJ, Bainton BG, Wilson LA, Thompson JJ, Summer WR. Compartmentalization of intraalveolar and systemic LPS-induced TNF and the pulmonary inflammatory response. *J Infect Dis* 1989;159:189-194.
65. Ortquist A, Hedlund J, Wretling B, Carlstrom A, Kalin M. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired pneumonia. *Scand Infect Dis* 1995;27:457-462.
66. Kragbjerg P, Vikerfors T, Holmberg H. Serum levels of IL-6, TNF- α , interleukin gamma and C-reactive protein in adults with community-acquired pneumonia. *Serodiagn Immunother J Infect Dis* 1993; 5:156-160.
67. van der Poll T, Marchant A, Keogh C, Goldman M, Lowry S. Interleukin-10 impairs host defense in murine pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 1996; 174: 994-1000.
68. Thomas R Martin. "Overview of Cytokine Networks in Lung Injury". *Semin Respir Crit Care Med* 2004; 25(1): 21-31.

69. Antunes G, Evans S.A, Lordan J.L, Frew A.J. Systemic cytokine levels in community-acquired pneumonia and their association with disease severity. *Eur Respir J* 2002; 20:990-995.
70. Kellum John A, Kong La, Fink Mitchell P ; Weissfeld Lisa A ;Yealy Donald M ; Pinsky Michael R., Fine Jonathan ; Krichevsky Alexander ; Delude Russell L ; Angus Derek C; for the GenIMS Investigators. Understanding the Inflammatory Cytokine Response in Pneumonia and Sepsis. Results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med*, 2007; 167: 1655-1663.
71. Xu F, Droemann D, Rupp J et al. Modulation of the inflammatory response to *Streptococcus pneumoniae* in a model of acute lung tissue infection. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008; 39:522–529.
72. Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé N, Carratalà J, Diaz V, Verdaguer R, Dorca J, Gudiol F: Early mortality in patients with community-acquired pneumonia: causes, and risk factors. *Eur Respir J* 2008, 32:733-739.
73. Feikin DR, Schuchat A, Kolczak M. Mortality from invasive pneumococcal pneumonia in the era of antibiotic resistance, 1995–1997. *Am J Public Health* 2000; 90:223–229.
74. Austrian R, Gold J: Pneumococcal bacteremia with special reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Annals of Int Med* 1994;60;759-776.
75. Jonhston R B. Pathogenesis of pneumococcal pneumonia. *Reviews of Infectious Diseases* 1991; 13 (Supple6): S509-17.
76. Monton C, Torres A. Lung inflammatory response in pneumonia. *Monaldi Arch Ches Dis* 1998; 53:56-63.
77. Heumann D, Barras C, Severin A et al. Gram-positive cell wall stimulates synthesis of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 by human monocytes. *Infect Immun* 1994; 62:2715–2721.
78. Park DR, Skerrett SJ. Chapter “Cytokines in *Legionella pneumophila* infections”. *Cytokines in pulmonary diseases. Lung biology in health and disease*. Edited by Steve Nelson and Thomas Martin. Ed. Marcel Dekker, Inc. Vol 141:155-188. New York 2000.
79. Matsumoto T, Hayamizu K, Marubayashi S, Shimizu K, Hamamoto A, Yamaguchi T, Hashizume J, Onabe T, Asahara T and Ohdan H.

- Relationship between the cAMP levels in leukocytes and the cytokine balance in patients surviving gram negative bacterial pneumonia. *J. Clin Biochem Nutr* 2011; 48 (2):134-141.
80. Martin TR, Matute-Bello G, Skerrett SJ and Frevert C H. Chapter "Extrapulmonary sepsis and cytokines in lung injury and defense". *Cytokines in pulmonary diseases. Lung biology in health and disease.* Edited by Steve Nelson and Thomas Martin. Ed. Marcel Dekker, Inc. Vol 141:131-154. New York 2000.
 81. Van Blem B. Vanholder R, De Paepe P, Vogelaers D, Ringoir S. Immunomodulating effects of antibiotics: literature review. *Infection* 1996, 24: 275-291.
 82. Dalhoff A, Shaliti I. Immunomodulatory effect of quinolones. *Lancet Infect Dis* 2003; 3:359–371.
 83. Yoshimura T, Kurita C, Usami E, Nakao T, Watanabe S, Kobayashi J, Yamazaki F, and Nagai H. Immunomodulatory action of levofloxacin on cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. *Chemotherapy* 1996; 42:459–464.
 84. Choi J, Song M, Kim G et al. Effect of moxifloxacin on production of proinflammatory cytokines from human peripheral blood mononuclear cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3704–3707.
 85. Calbo E, Alsina M, Rodríguez-Carballeira M et al. Systemic expression of cytokine production in patients with severe pneumococcal pneumonia: effects of treatment with a β -lactam versus a fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2359–2402.
 86. Wunderink R.G. Adjunctive Therapy in Community-Acquired Pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med* 2009; 30:146-153.
 87. Demartini G, Esposti D, Marthyn P et al. Effect of multiple doses of clarithromycin and amoxicillin on IL-6, IFN γ and IL-10 plasma levels in patients with community-acquired pneumonia. *J Chemother* 2004; 16:82–85.
 88. Meijvis S.C.A, Grutters J.C, Thijsen S. F, Rijkers G.T, Biesma D.H, Endeman H. Therapy in pneumonia: what is beyond antibiotics? *Netherlands The Journal of Medicine.* 2011; 69 (1): 21-26.

89. Rice TW, Wheeler AP, Bernard GR, Vincent JL, Angus DC, Aikawa N et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of TAK-242 for the treatment of severe sepsis. *Crit Care Med* 2010;38(8):1685-94.
90. Nelson S, Steven M. Belknap, Richard W. Carlson, David Dale, Ben DeBoisblanc, Stephen Farkas, Nick Fotheringham, Hoi Ho, Thomas Marrie, Hassan Movahhed, Richard Root, and John Wilson, for the CAP Study Group* A randomized controlled trial of filgrastim as an adjunct to antibiotics for treatment of hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *The Journal of Infectious Diseases* 1998;178:1075-80.
91. Laichalk L, Bucknell KA, Huffnagle GB, Wilkowski JM, Moore TA, Romanelli RJ, and Standiford TJ*. Intrapulmonary delivery of tumor necrosis factor agonist peptide augments host defense in murine gram-negative bacterial pneumonia. *Infection and Immunity* 1998; 2822–2826.
92. Standiford T, Wilkowski J, Sisson T, Hattori N, Mehrad B, Bucknell K.A and Moore TA. Intrapulmonary tumor necrosis factor gene therapy increases bacterial clearance and survival in murine gram-negative pneumonia. *Human Gene Therapy* 1999; 10:899-909.
93. Jantz MA, Sahn SA. Corticosteroids in acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1079–1100.
94. Raño A, Agusti C, Sibila O, Torres A: Associated inflammatory response in pneumonia: role of adjunctive therapy with glucocorticoids. *Curr Opin Infect Dis* 2006, 19:179-184.
95. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappa beta or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. *Endocr Rev* 2003; 24:488–522.
96. Confalonieri M, Urbino R, Potena A, et al. Hydrocortisone infusion for severe community-acquired pneumonia: a preliminary randomized study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:242-8.
97. Meduri G U, Tolley Elizabeth A, Chrousos George P, Stentz F. Prolonged methylprednisolone treatment suppresses systemic inflammation in patients with unresolving acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:983-991.

98. Meduri GU, Headley S, Golden E, et al. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998;280:159-65.
99. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troche G, Chaumet-Riffaut P, Bellissant E. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862–871.
100. Briegel J, Forst H, Haller M, Schelling G, Kilger E, Kuprat G, Hemmer B, Hummel T, Lenhart A, Heyduck M, Stoll C, Peter K. Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: a prospective, randomized, double-blind, single center study. *Crit Care Med* 1999; 27:723–732.
101. Marik P, Kraus P, Sribante J, Havlick I, Lipman J, Johnson DW. Hydrocortisone and tumor necrosis factor in severe community-acquired pneumonia: a randomized controlled study. *Chest* 1993;104:389-94.
102. Snijders D, Daniels JMA, de Graaff CS, van der Werf TS, Boersman WG: Efficacy of corticosteroids in community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2010, 181:975-982.
103. Monton C, Ewing S, Torres A, El-Ebiary M, Filella X, Rano A, Xaubet A: Role of glucocorticoids on inflammatory response in non-immunosuppressed patients with pneumonia: a pilot study. *Eur Respir J* 1999, 14:218-220.
104. Mejvis S, Harderman H, Remmelts H, Heijligenberg R, Rijkers GT, van Velzen-Blad H, Voorn GP, van de Garde EMW, Enderman H, Grutters JC, Bos WJW, Biesma D. Dexamethasone and length of hospital stay in patients with community-acquired pneumonia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* June 2011; 2023-2030.
105. Mikami K, Suzuki M, Kitagawa H, Kawakami M, Hirota N, Yamaguchi H, Narumoto O, Kichikawa Y, Kawai M, Tashimo H, Arai H, Horiuchi T, Sakamoto Y. Efficacy of corticosteroids in the treatment of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Lung* 2007, 185:249-255vvv.

106. Garcia-Vidal C, Calbo E, Pascual V, Ferrer C, Quintana S, Garau J: Effects of systemic steroids in patients with severe community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2007, 30:951-956.
107. Salluh J IF, Povoia P, Soares M, Castro-Faria-Neto HC, Bozza FA, Bozza PT. The role of corticosteroids in severe community-acquired pneumonia: a systemic review. *Critical Care* 2008, 12:R76.
108. Siempos I, Vardakas K, Kopterides P, Falagas ME. Adjunctive therapies for community-acquired pneumonia: a systemic review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008; 62:661-668.
109. Mortensen E, Pugh M, Copeland LA, Restrepo M, Cornell JE, Anzueto A. Impact of statins and angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality of subjects hospitalised with pneumonia. *Eur Respir J* 2008; 31 (3): 611-617.
110. Schlienger RG, Fedson DS, Jick SS, Jick H, Meier CR. Statins and risk of pneumonia: a population-based, nested case-control study. *Pharmacotherapy* 2007; 27 (3):325-332.
111. Majumdar SR, McAlister FA, Eurich DT, Padwal RS, Marrie JT. Statins and outcomes in patients admitted to hospital with community-acquired pneumonia: population-based prospective study. *BMJ* 2006; 333(7576):999.
112. Mortensen EM, Restrepo MI, Anzueto A, Pugh J. The impact of prior outpatient ACE inhibitor use on 30-day mortality for patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *BMC Pulm Med* 2005;5:12.
113. Van de Garde EM, Souverein PC, van den Bosch JM, Deneer VH, Leufkens HG. Angiotensin-converting enzyme inhibitor use and pneumonia risk in a general population. *Eur Respir J* 2006;27:1227-1222.
114. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa S, Dhainaut J, López-Rodríguez A, Steingrub JS; Garber GE, Helterbrad J, Wesley E, Fisher E for The Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS Study) Group. Efficacy and Safety of Recombinant Human Activated Protein C for severe sepsis. *New Engl J Med* March 2001.
115. Laterre PF, Opal SM, Abraham E, et al. A clinical evaluation committee assessment of recombinant human tissue factor pathway inhibitor

- (ticofagin) in patients with severe community-acquired pneumonia. *Crit Care* 2009;13 (2):R36.
116. Wunderink RG, Laterre PF, Francois B, Perrotin D, Artigas A, Otero Vidal L, Lobo SM, San Juan J, Hwang SCh9, Dugernier T, LaRosa S, Wittebole X, Dhainaut JF, Doig Mendelson CMH, Zwingelstein C, Guoqin Su, and Opal S, on behalf of the CAPTIVATE Trial Group. Recombinant tissue factor pathway inhibitor in severe community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 183. pp 1561–1568, 2011.
117. Light RB. Indomethacin and acetylsalicylic reduce intrapulmonary shunt in experimental pneumococcal pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:520-525.
118. Hanly PJ, Roberts D, Dobson K, Light RB. Effect of indomethacin on arterial oxygenation in critically ill patients with severe bacterial pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:520-525.
119. Ferrer M, Torres A, Baer R, Hernandez C, Roca J, Rodríguez-Roisin R. Effect of acetylsalicylic acid on pulmonary gas exchange in patients with severe pneumonia: a pilot study. *Chest* 1997;111:1094-1100.
120. Waterer GW, Somes GW, Wunderink R. Monotherapy may be suboptimal for severe bacteremic pneumococcal pneumonia. *Arch Intern Med* 2001; 161:1837–1842.
121. Martinez JA, Horcajada JP, Almela M et al. Addition of a macrolide to a beta-lactam-based empirical antibiotic regimen is associated with lower in-hospital mortality for patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2003; 36:389–395.
122. Baddour LM, Yu VL, Klugman KP et al. Combination therapy lowers mortality among severely ill patients with pneumococcal pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:440–444.
123. Harbath S, Garbino J, Pugin J et al. Lack of effect of combination antibiotic therapy on mortality in patients with pneumococcal. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24:688–690.
124. Aspa J, Rajas O, Rodriguez de CF, Huertas MC; Borderias L, Cabello FJ et al. Impact of initial antibiotic choice on mortality from pneumococcal pneumonia. *Eur Respir J* 2006; 27 (5): 1010-9.

125. Opal S, DePal VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000;117:1162-1172.
126. Fisher CH J, Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Roland MG, Schein R, Benjamin E, for the Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *New Engl J Med* 1996; 334 (26):1697-1702.
127. Gallagher J, Fisher C, Sherman B, Munger M, Meyers B, Ellison T, Fischkoff S, Barchuk WT, Teoh L, Velagapudi R. A multicenter, open-label, prospective, randomized, dose-ranging pharmacokinetic study of the anti-TNF-alpha antibody afelimomab in patients with sepsis syndrome. *Intensive Care Med.* 2001 Jul; 27(7):1169-78.
128. Opal SM, Cross AS, Jhung J, et al. Potential hazards of combination immunotherapy in the treatment of experimental sepsis. *J Infect Dis* 1996;173:1415-1421.
129. Endeman H, Meivjjs S.C.A, Rijkeers G. T, van Velzen-Blad H, van Moorsel C. H.M, Grutters J.C, Biesman D. H. Systemic cytokine response in patients with community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2011; 37 (6): 1431-1438.
130. Calbo E, Alsina, Rodríguez-Caballeira M, Lite J, Garau J. The impact of time on the systemic inflammatory response in pneumococcal pneumonia. *Eur Respir J* 2010; 35: 614–618.
131. Park, D. R, and S. J. Skerrett. IL-10 enhances the growth of *Legionella pneumophila* in human mononuclear phagocytes and reverses the protective effect of IFN- γ . *J. Immunol.* 1996; 157:2528–2538.
132. Friedman H, Yamamoto Y, Newton C, et al. Immunologic response and pathophysiology of *Legionella* infection. *Semin Respir Infect* 1998; 13: 100–108.
133. Martínez R, Menendez R, Reyes S, Polverino E, Cillóniz C, Martínez A, Esquinas C, Filella X, Ramírez P, Torres A. Factors associated with inflammatory cytokine patterns in community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2011;37:393-399.
134. Rodriguez A, Mendia A, Sirvent JM et al. Combination antibiotic therapy improves survival in patients with community-acquired pneumonia and shock. *Crit Care Med* 2007;35:1493–14.

135. Ioannas M, Ferrer M, Cavalcanti M, et al. Causes and predictors of non-response to treatment of intensive care unit-acquired pneumonia. *Crit Care Med* 2004; 32:938-945.
136. Menendez R, Martinez R, Reyes S et al. Biomarkers improve mortality prediction by prognostic scales in community-acquired pneumonia. *Thorax* 2009; 64:587–591.
137. Daifuku R, Movahhed H, Fotheringham N, Bear MB, Nelson S. Time to resolution of morbidity: an endpoint for assessing the clinical cure of community-acquired pneumonia. *Respir Med* 1996; 90:587-92.
138. Bruns A.H.W, Oosterheert J.J, Hak E., Hoepelman A.I.M. Usefulness of consecutive C-reactive protein measurements in follow-up of severe community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2008;32: 726-732.