

# Desarrollo y validación de una calculadora de riesgo de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas mediante parámetros hematológicos

## Development and validation of a risk calculator of neonatal sepsis caused by Gram-negative bacteria based on hematological parameters

Juan José Aguilar-Lugo-Gerez, Carmen Gabriela Aguilar-López-Escalera, José Luis Arredondo-García, José Humberto Medina-Cortina

### Resumen

**ANTECEDENTES:** La sepsis neonatal por bacterias gramnegativas tiene alta mortalidad; el tratamiento antibiótico empírico puede conducir a desenlaces adversos si es insuficiente o excesivo.

**OBJETIVO:** Desarrollar y validar una calculadora capaz de estimar la probabilidad de que el agente causal de la sepsis neonatal sea una bacteria gramnegativa, con la aplicación de parámetros hematológicos medidos en el momento de la sospecha clínica.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio transversal y retrospectivo. Se analizaron los expedientes de los pacientes hospitalizados entre los años 2002 a 2019 en el Instituto Nacional de Pediatría, con diagnóstico de sepsis neonatal comprobada por cultivo. Para identificar los parámetros hematológicos asociados con la sepsis neonatal causada por bacterias gramnegativas, se aplicó la técnica estadística de regresión logística binaria y como método de validación cruzada se utilizó el remuestreo de K-iteraciones.

**RESULTADOS:** Se identificaron 103 casos de sepsis neonatal comprobada por cultivo, a quienes se practicó una biometría hemática en el momento de la sospecha clínica. La sepsis neonatal causada por bacterias gramnegativas fue predicha por la edad, anemia, concentración media de hemoglobina corpuscular, recuento plaquetario y leucocitario y volumen plaquetario medio. Se encontró asociación estadísticamente significativa entre el sexo femenino y la sepsis neonatal por *Staphylococcus* coagulasa negativo [OR = 2.11, IC95%: 1.08-4.11], trombocitopenia y sepsis neonatal de aparición tardía [OR = 2.1, IC95%: 1.71-2.58], anemia y sepsis neonatal por enterobacterias [OR = 3.27, IC95%: 1.22-8.76], trombocitopenia y sepsis neonatal por enterobacterias [OR = 3.62, IC95%: 1.28-10.17], y trombocitopenia con sepsis neonatal por *Staphylococcus* coagulasa negativo [OR=0.23, IC95%: 0.09-0.56].

**CONCLUSIONES:** Mediante la utilización de parámetros hematológicos medidos al momento de la sospecha clínica de sepsis neonatal es posible predecir la probabilidad de que el agente causal sea una bacteria gramnegativa.

**PALABRAS CLAVE:** Sepsis neonatal; bacterias gramnegativas; tratamiento antibiótico; modelos logísticos; anemia; trombocitopenia.

### Abstract

**BACKGROUND:** Neonatal sepsis due to Gram-negative bacteria has a high mortality, and its empirical antibiotic treatment can lead to adverse results if it turns out to be insufficient or excessive.

**OBJECTIVE:** The aim of this study was to develop and validate a calculator capable of estimating the probability that the causative agent of neonatal sepsis is a Gram-negative bacteria, using hematological parameters measured at the time of clinical suspicion.

**MATERIAL AND METHODS:** In this retrospective cross-sectional study, we conducted an analysis of hospitalized patients with culture-proven neonatal sepsis at our institution between 2002 and 2019. Binary logistic regression was used to identify hematological parameters associated with neonatal sepsis due to gram-negative bacteria, and a K-fold resampling method was used for cross-validation.

Adscritos a la Unidad de Investigación Clínica.

Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México.

**Recibido:** 6 de agosto 2020

**Aceptado:** 12 de noviembre 2020

### Correspondencia

Juan José Aguilar Lugo Gerez  
juanaguilarg@icloud.com

**Este artículo debe citarse como:** Aguilar-Lugo-Gerez JJ, Aguilar-López-Escalera CG, Arredondo-García JL, Medina-Cortina JH. Desarrollo y validación de una calculadora de riesgo de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas mediante parámetros hematológicos. Acta Pediatr Mex 2021; 42 (1): 1-10.

**RESULTS:** We identified 103 cases of culture-proven neonatal sepsis that underwent a complete blood count performed at the time of clinical suspicion. Sepsis due to gramnegativas bacteria was predicted by age, anemia, mean corpuscular hemoglobin concentration, platelet count, mean platelet volume and white blood cell count. We also found statistically significant associations between female sex and neonatal sepsis due to Coagulase Negative Staphylococci [OR = 2.11, 95%CI 1.08-4.11], thrombocytopenia and late-onset neonatal sepsis [OR = 2.1, 95%CI 1.71-2.58], anemia and neonatal sepsis due to enterobacteria [OR=3.27, 95%CI 1.22-8.76], thrombocytopenia and neonatal sepsis due to enterobacteria [OR=3.62, 95%CI 1.28-10.17], and thrombocytopenia with neonatal sepsis due to Coagulase Negative Staphylococci [OR = 0.23, 95%CI 0.09-0.56].

**CONCLUSIONS:** By employing hematological parameters measured at the time of clinical suspicion of NS, it is possible to predict the probability that the causative agent is a Gram-negative bacteria.

**KEYWORDS:** Neonatal sepsis; Gram-negative Bacteria; Antibiotic treatment; Logistic Models; Anemia; Thrombocytopenia.

## ANTECEDENTES

Con alrededor de 400,000 muertes anuales, la sepsis neonatal constituye la principal causa de muerte en recién nacidos y la tercera en menores de 5 años.<sup>1</sup> En México, los bacilos gramnegativos son responsables de hasta un 40% de los casos confirmados por cultivo.<sup>2</sup> La sepsis neonatal causada por estos agentes tiene un curso clínico más acelerado, pues llega a provocar la muerte en las primeras 48 horas, incluso en 27% de los casos; mientras que solo 2% de las infecciones causadas por bacterias grampositivas u hongos tiene una evolución similar.<sup>3</sup>

### Respuesta inflamatoria inducida por la sepsis neonatal

Uno de los desencadenantes más importantes de la respuesta inflamatoria durante las infecciones bacterianas es el reconocimiento, por parte de células del sistema inmunológico, de sustancias liberadas al medio por los microorganismos. Estas sustancias suelen ser componentes de la pared bacteriana, como el lipopolisacárido que forma parte de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, y el peptidoglicano y ácido lipoteicoico que componen la pared de las bacterias grampositivas.<sup>4,5</sup>

El reconocimiento inicial de estas sustancias por monocitos y macrófagos sucede mediante su

unión a receptores de patrones (PRR) moleculares asociados con patógenos (PAMP). Estos receptores, entre los que destacan los receptores tipo Toll (TLR), tienen afinidad por una amplia variedad de sustancias microbianas.<sup>6</sup> El lipopolisacárido es reconocido por el complejo CD14-TLR, mientras que los peptidoglicanos y el ácido lipoteicoico se unen a TLR2 y, en menor medida, a TLR4. Si bien la señalización intracelular de estos receptores comparte ciertas similitudes, pues depende de cinasas de la familia de receptores de IL-1; el TLR4 es capaz de activar vías dependientes e independientes de MyD88, lo que podría explicar la diferencia en la respuesta humoral desencadenada por bacterias grampositivas y gramnegativas. El patrón de citocinas inducido *in vitro* por bacterias gramnegativas consta de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-8, mientras que el desencadenado por bacterias grampositivas se compone de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF $\beta$ , IL-4 e IFN- $\gamma$ .<sup>4</sup> Además, en estudios *in vivo* se ha documentado una concentración mayor de mediadores de la inflamación como PCR e IL-6 durante la sepsis causada por bacterias gramnegativas.<sup>7</sup>

### Cambios en parámetros hematológicos durante la sepsis neonatal

El mecanismo que origina el descenso de la hemoglobina durante las infecciones sistémicas comprende la inhibición del transporte reticuloendotelial de hierro y una disminución de



la sensibilidad medular a la eritropoyetina. En ocasiones, con la aparición de coagulación intravascular diseminada se añade un componente hemolítico microangiopático.<sup>6</sup>

La trombocitopenia tiene un mecanismo eminentemente periférico, que implica un incremento en el consumo plaquetario causado por mayor reactividad y adhesividad que, en ocasiones, se acompaña de un mecanismo inmunitario, pues algunos pacientes desarrollan autoanticuerpos contra receptores plaquetarios, como la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  y la glicoproteína Ib/IX. Además, cuando se desencadena coagulación intravascular diseminada, la trombocitopenia se exagera por agregación plaquetaria dependiente de la coagulación a través de la activación de los receptores activados por proteasas.<sup>6,8</sup> La trombocitopenia es más frecuente en los casos de sepsis neonatal causados por bacterias gramnegativas.<sup>9</sup>

En varios estudios se ha observado aumento del volumen plaquetario medio durante la sepsis neonatal. Debido a que el citoplasma de las plaquetas se contrae conforme estas envejecen, se ha planteado la teoría de que tal aumento del volumen plaquetario medio es consecuencia de un incremento en la tasa de recambio plaquetario por efecto del acortamiento de su vida media. También se ha demostrado que la sepsis neonatal por *Staphylococcus coagulasa* negativo provoca mayor incremento del volumen plaquetario medio, aunque se desconocen los factores implicados en este fenómeno.<sup>9</sup>

Si bien la mayor parte de las veces las infecciones sistémicas desencadenan una respuesta hematológica de leucocitosis, es frecuente que la población pediátrica experimente, más bien, una disminución del recuento leucocitario, llegando en ocasiones a la franca leucopenia.<sup>6</sup> En estudios experimentales se ha observado que durante la inflamación sistémica, inicialmente hay disminución del recuento leucocitario, a expensas de linfocitos y monocitos, seguida de neutrofilia.<sup>10</sup>

Es probable que la caída inicial del recuento leucocitario se produzca a consecuencia de una migración leucocitaria hacia el espacio extravascular, mientras que el aumento reactivo posterior de la concentración de neutrófilos resulte del aumento de la tasa de leucopoyesis. Sin embargo, los factores que conducen a la neutropenia en algunos pacientes que cursan con sepsis permanecen poco claros.<sup>6</sup>

### Predicción del agente causal de la sepsis neonatal

Debido a la extensa propagación de resistencia a los antimicrobianos, el alcance del tratamiento antibiótico empírico, en la sepsis neonatal causada por bacterias gramnegativas, tiene alta probabilidad de ser insuficiente. Además, la infección que provocan estos agentes se asocia con mayores y más tempranos eventos adversos cuando se permite su libre evolución; puede, incluso, provocar la muerte antes de contar con la confirmación en cultivo. Sin embargo, en la actualidad es indispensable extremar las medidas que limiten la propagación de resistencia a los antimicrobianos, por lo que siempre debe evitarse una cobertura antibiótica empírica excesiva. Es prioritario contar con herramientas que permitan predecir el agente causal desde el momento de la sospecha clínica de sepsis neonatal.

El objetivo de este estudio fue: desarrollar y validar una calculadora capaz de estimar la probabilidad de que el agente causal de la sepsis neonatal sea una bacteria gramnegativa, con la aplicación de parámetros hematológicos medidos en el momento de la sospecha clínica.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio transversal y retrospectivo. Se analizaron los expedientes de los pacientes hospitalizados entre los años 2002 a 2019 en el Instituto Nacional de Pediatría, con diagnóstico de sepsis neonatal comprobada por cultivo de acuerdo

con el prefijo P36 de la Clasificación Internacional de Enfermedades en su 10ª edición (CIE-10). Criterios de inclusión: casos con al menos un hemocultivo positivo, con muestra tomada durante los primeros 30 días de vida.

El análisis se efectuó con el programa IBM SPSS Statistics para Macintosh, versión 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). La edad registrada correspondió a la del momento de la toma de la muestra para el hemocultivo positivo. Los reportes de la biometría hemática utilizados fueron los que tuvieron mayor cercanía con el momento de la toma de muestra para el hemocultivo positivo, en un lapso entre las 72 horas previas y las 24 horas siguientes.

El punto de corte utilizado para definir sepsis neonatal de aparición temprana y tardía fue de 3 días. La anemia, tipo de anemia, policitemia, leucopenia y leucocitosis se definieron según la edad de los pacientes y los valores normales de referencia de los laboratorios de la Clínica Mayo.<sup>11</sup> La trombocitopenia se definió como un recuento plaquetario menor a 84,000 y 150,000/ $\mu$ L en menores y mayores de 7 días, respectivamente. La trombocitosis se definió como un recuento plaquetario mayor de 478,000 y 400,000/ $\mu$ L en menores y mayores de 7 días, respectivamente.<sup>12</sup>

Las asociaciones entre las variables categóricas se calcularon con la prueba de  $\chi^2$  de Pearson, y en los casos necesarios se utilizó la prueba exacta de Fisher o la corrección de Yates. El ajuste para la edad se realizó con la prueba de  $\chi^2$  de Wald. Puesto que ninguna variable numérica mostró una distribución normal, la asociación con éstas se calculó con las pruebas de U de Mann-Whitney y H de Kruskal-Wallis, según el caso. Para el cálculo de las correlaciones entre las variables numéricas se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman.

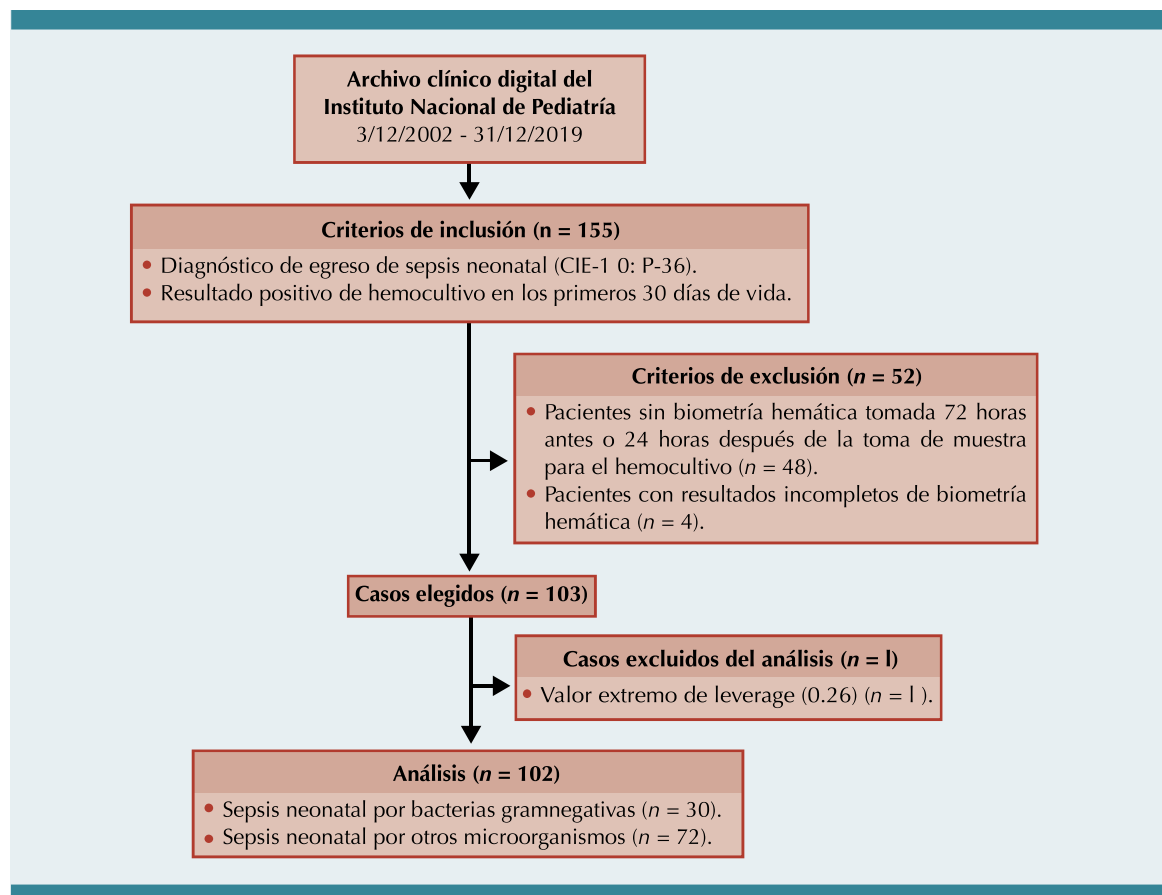
Las variables que tuvieron una asociación significativa con la variable de sepsis neonatal

por bacterias gramnegativas se incorporaron al modelo de regresión logística binaria. Posteriormente, se eliminaron e incorporaron nuevas variables utilizando el criterio de la significación de la prueba de  $\chi^2$  de Wald. Las variables numéricas que no mostraron una asociación lineal con la función logit se recodificaron en categorías. Para la elección del modelo definitivo se consideró el valor de la  $R^2$  de Nagelkerke y el valor de  $p$  de la prueba de Hosmer-Lemeshow. Posteriormente, se buscaron valores extremos mediante el cálculo de los residuos y valores de influencia, y se eliminó del análisis una observación por un valor extremo. La asunción de linealidad se probó, visualmente, graficando los predictores numéricos con la función logit, ajustando para el resto de covariados. Para probar la no colinealidad se calcularon los valores de tolerancia y propios (*eigenvalues*), y para la asunción de normalidad de los residuos se utilizaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. La **Figura 1** muestra el diagrama de flujo de la selección de casos para el modelo.

Para la validación cruzada se aplicó un método de K-iteraciones, se utilizaron diez subconjuntos extraídos mediante muestreo aleatorio, estratificado por la variable de desenlace. La capacidad de discriminación y la calibración del modelo se midieron mediante el cálculo del área bajo la curva de la característica operativa del receptor (ROC) y la prueba de  $\chi^2$  de Hosmer-Lemeshow, respectivamente; se utilizó la media de los resultados en los subconjuntos de validación.

La calculadora digital se diseñó mediante la programación de los coeficientes  $\beta$  en el lenguaje JavaScript con el programa Adobe Dreamweaver para Macintosh, versión 12.0.0.5808 (Adobe Inc., San Jose, Calif., USA); y se publicó con acceso abierto en internet (Apéndice A).

En todos los análisis se consideró significativo un valor de  $p < .05$ .



**Figura 1.** Selección de casos para el modelo predictivo de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas.

## RESULTADOS

De los 155 casos incluidos, a 48 no se les tomó la biometría hemática en el lapso descrito y 4 tenían reportes incompletos, razón por la que se excluyeron del análisis multivariado, pero no de los análisis bivariados. Los valores del diferencial leucocitario se eliminaron por estar ausentes en la mayoría de los casos. La mediana de edad fue de 14 días, con mínimo de 0.9 y máximo de 29.6 días. El 5.8% (9 de 155) de los casos fueron de sepsis temprana y el restante 94.2% (146 de 155) fueron de sepsis tardía. El 38.1% (59 de 155) de los casos sucedieron en pacientes del sexo femenino, mientras que 61.9% (96 de 155) en pacientes del sexo masculino. La razón de hombres y mujeres, de 1.62:1 fue

significativamente mayor a la razón mundial al nacimiento de 1.05:1 ( $p = .004$ ).<sup>13</sup> La cantidad de aislamientos de cada microorganismo se muestra en el **Cuadro 1**. En la **Figura 2** se encuentra la distribución de los aislamientos por edad.

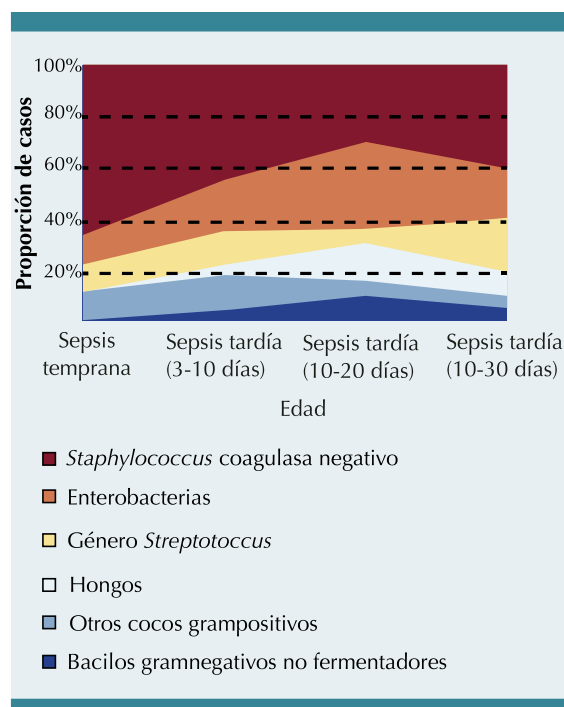
La mediana de hemoglobina fue de 12.7 g/dL, con mínimo de 6.8 y máximo de 23 g/dL. El 34.6% (37 de 107) de los pacientes tenía anemia, normocítica en 91.9% de los casos y microcítica en el resto. Solo 1.9% (2 de 107) de los pacientes tuvo poliglobulia. La mediana del recuento plaquetario fue de 132,000/ $\mu$ L, con mínimo de 2000 y máximo de 562,000/ $\mu$ L. Solo 40.1% de los pacientes tuvieron concentración normal de plaquetas, mientras que 49.5% (53 de 107) y 10.3% (11 de 107) sufrieron trombocitopenia y

trombocitosis, respectivamente. La mediana del recuento leucocitario fue de 12,000/ $\mu\text{L}$ , con mínimo de 700 y máximo de 48,500/ $\mu\text{L}$ . El 12.4% (13 de 105) de los pacientes tuvo leucopenia, mientras que 16.2% (17 de 105) leucocitosis.

Las mujeres tuvieron infecciones por *Staphylococcus coagulasa negativo* con más frecuencia que los hombres, con una razón de momios (RM) ajustada para la edad de 2.11 [IC95%: 1.08-4.11]. La sepsis tardía tuvo una razón de momios de 2.1 de cursar con trombocitopenia [IC95%: 1.71-2.58]. La anemia y la trombocitopenia

**Cuadro 1.** Prevalencia de los aislamientos microbiológicos por agente

<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	62 de 155 (40%)
<i>S. epidermidis</i>	50 (32.3%)
<i>S. haemolyticum</i>	6 (3.9%)
<i>S. hominis</i>	4 (2.6%)
Otros ( <i>S. cohnii</i> , <i>S. simulans</i> , etc.)	2 (1.2%)
Enterobacterias	37 de 155 (23.9%)
<i>K. pneumoniae</i>	15 (9.7%)
<i>E. coli</i>	12 (7.7%)
<i>E. cloacae</i>	5 (3.2%)
<i>S. marcescens</i>	3 (1.9%)
Otros ( <i>B. cepacia</i> , <i>K. oxytoca</i> , etc.)	2 (1.2%)
Género <i>Streptococcus</i>	20/155 (12.9%)
Alfahemolítico	15 (9.6%)
Betahemolítico	5 (3.2%)
Hongos	14/155 (9%)
<i>C. albicans</i>	8 (5.2%)
Otros ( <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. guilliermondii</i> , etc.)	6 (3.9%)
Otros cocos grampositivos	13/155 (8.3%)
<i>S. aureus</i>	7 (4.5%)
<i>Enterococcus</i>	3 (1.9%)
<i>M. luteus</i>	3 (1.9%)
Bacilos gramnegativos no fermentadores	9/155 (5.8%)
<i>P. aeruginosa</i>	4 (2.6%)
Otros ( <i>A. lwoffii</i> , <i>A. xylooxidans</i> , etc.)	5 (3.2%)



**Figura 2.** Distribución de los aislamientos microbiológicos por edad.

topenia tuvieron una relación estrecha con las infecciones por enterobacterias. La RM ajustada para la edad de la anemia fue de 3.27 [IC95%: 1.22-8.76] y para la trombocitopenia de 3.62 [IC95%: 1.28-10.17]. Esta última coexistió con una frecuencia mucho menor en los casos de sepsis neonatal por *Staphylococcus coagulasa negativo*, con una RM ajustada para la edad de 0.23 [IC95%: 0.09-0.56]. Los parámetros hematológicos por grupo etiológico se muestran en el **Cuadro 2**.

Las variables edad entre 8 y 17 días, anemia, concentración media de hemoglobina corpuscular menor de 33.5 g/dL, recuento plaquetario menor de 120,000 plaquetas/ $\mu\text{L}$ , volumen plaquetario medio en fl y recuento leucocitario menor a 6000 o mayor a 16,000/ $\mu\text{L}$  se incorporaron al modelo de regresión logística binaria. La  $R^2$  de Nagelkerke fue de 0.615. Los coeficientes  $\beta$ , RM y valores de  $p$  de la prueba de  $\chi^2$  de Wald

de las variables predictoras se encuentran en el **Cuadro 3**. La **Figura 3** muestra la relación de las variables predictoras con la RM de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas.

En el diagnóstico del modelo no se encontró colinealidad. Todos los valores de tolerancia fueron mayores de 0.85 y los valores propios menores de 15. Se introdujeron 5 casos con el desenlace

**Cuadro 2.** Diferencias entre los casos de sepsis neonatal causados por bacterias grampositivas, gramnegativas y hongos

	Bacterias grampositivas	Bacterias gramnegativas	Hongos	p
Sexo femenino n = 155	36-95 (37%)	18-46 (39%)	5-14 (35%)	.97 *
Sepsis temprana n = 155	87-95 (8%)	1-46 (2%)	0-14 (0%)	
Anemia n = 107	19-63 (30%)	16-31 (51%)	2-13 (15%)	<b>.03 *</b>
Trombocitopenia n = 107	22-63 (34%)	23-31 (74%)	8-13 (61%)	<b>.001 *</b>
Leucopenia n = 105	4-61 (6%)	9-31 (29%)	0-13 (0%)	<b>.02 †</b>
Leucocitosis n = 105	13-61 (21%)	3-31 (9%)	1-13 (7%)	.24 *
Edad n = 155	10.86 (0.9-29.6 ->)	14.89 (2.8-27.4 ->)	16.93 (7.8-25.4 ->)	.14 ‡
Hemoglobina n = 107	13.6 g/dL (7.7-23 ->)	11.7 g/dL (6.8-18 ->)	11.8 g/dL (9.9-13.7 ->)	<b>.003 ‡</b>
Plaquetas n = 107	189,000/μL (4-562 ->)	35,000/μL (2-430 ->)	35,000/μL (16-331 ->)	<b>&lt;.001 ‡</b>
Leucocitos n= 105	12,100/μL (1.7-48.5 ->)	9,900/μL (0.7-36.9 ->)	12,300/μL (9-24.2 ->)	.26 ‡

Notas:

El texto en negritas indica una diferencia estadísticamente significativa con un valor de  $p < .05$ .

\*  $\chi^2$  de Pearson.

|| Casos insuficientes para  $\chi^2$  de Pearson.

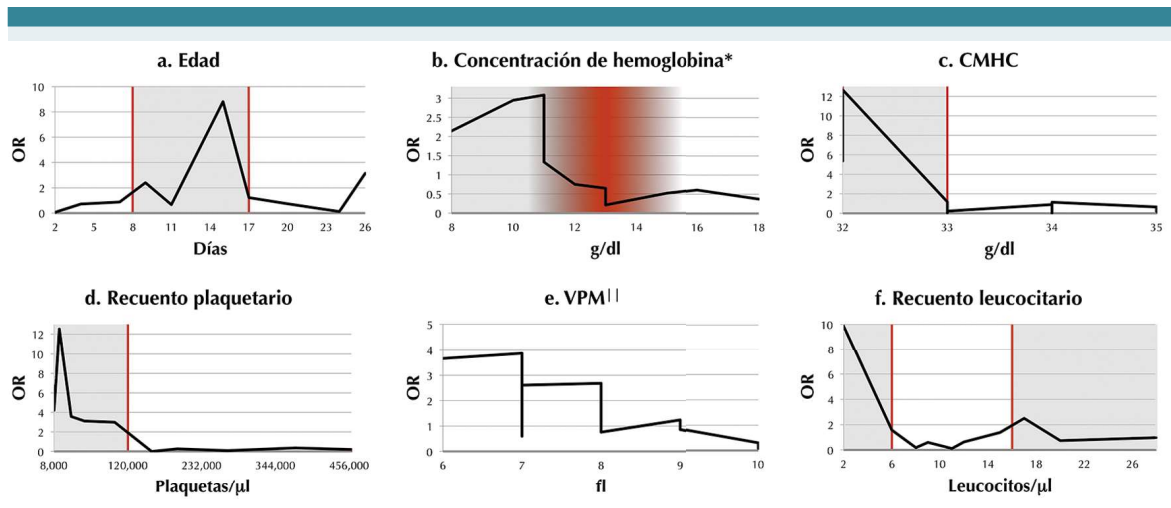
†  $\chi^2$  de Pearson con corrección de Yates.

‡ H de Kruskal-Wallis.

**Cuadro 3.** Variables predictoras de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas

	Coef. $\beta$	P*	OR [IC95%]
Edad 8-17 días	1.665	.01	5.287 (1.47-19)
Anemia	1.480	.03	4.394 (1.14-16.9)
Concentración media de hemoglobina corpuscular < 33.5 g/dL	2.388	.002	10.89 (2.4-49.31)
Recuento plaquetario < 120,000/μL	3.449	<.001	31.481 (6.62-149.51)
Volumen plaquetario medio (fl)	-0.762	.005	0.467 (0.27-0.79)
Recuento leucocitario < 6000 o > 16,000/μL	1.883	.006	6.571 (1.70-25.29)
Constante	0.514	.8	1.671

\* Prueba de  $\chi^2$  de Wald.

**Notas:**

Las líneas rojas representan los puntos de corte utilizados para la codificación dicotómica empleada en el modelo.

\* El punto de corte para la definición de anemia depende de la edad de los pacientes.

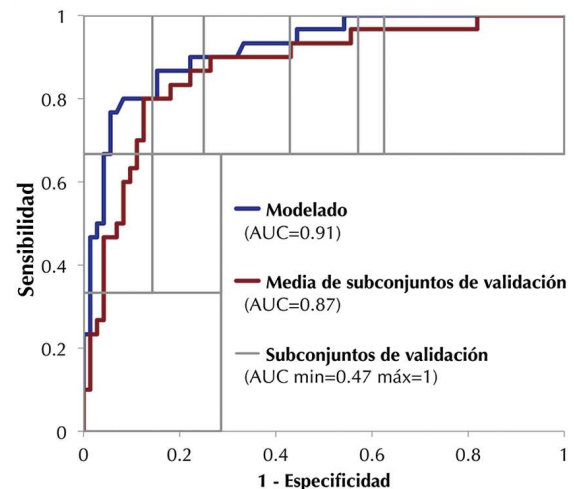
|| La variable volumen plaquetario medio se utilizó en su forma numérica.

**Figura 3.** Relación de las variables predictoras, en su forma numérica, con la RM de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas, ajustado por el resto de covariados.

menos frecuente por cada predictor utilizado. El único predictor numérico mostró, visualmente, una relación lineal con la función logit, ajustando para el resto de covariados (**Figura 3e**). Los residuos no tuvieron una distribución normal en las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

La capacidad de discriminación, medida mediante el área bajo la curva ROC fue de  $0.919 \pm 0.057$  durante el modelado y de  $0.87 \pm 0.07$  en los subconjuntos de validación, con mínimo de 0.47 y máximo de 1 (**Figura 4**). La calibración del modelo, medida con la prueba de  $\chi^2$  de Hosmer-Lemeshow persistió no significativa durante la validación, con un valor de  $p$  de .958 en el modelado y de .10 en los subconjuntos de validación. En la **Figura 5** se observa la media de la probabilidad pronosticada y observada de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas en los subconjuntos de validación.

El enlace web a la calculadora digital se encuentra en el Apéndice A.

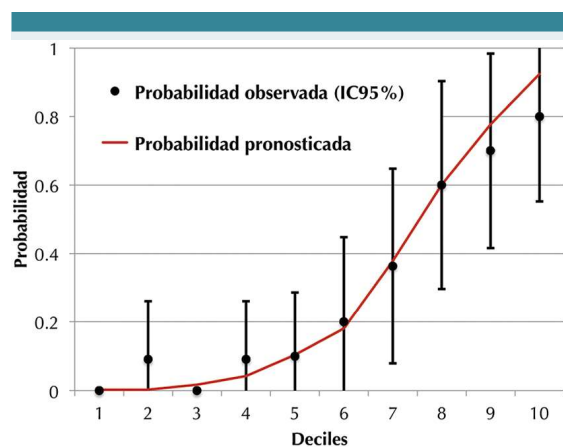
**Notas:**

AUC: área bajo la curva.

ROC: característica operativa del receptor.

**Figura 4.** Curva ROC del modelo predictivo de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas.





**Figura 5.** Distribución por deciles de la media de la probabilidad pronosticada y observada de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas en los subconjuntos de validación.

## DISCUSIÓN

La mayor incidencia de anemia durante la sepsis neonatal causada por microorganismos gramnegativos concuerda con lo reportado en la bibliografía internacional. El descenso de la concentración de hemoglobina corpuscular media, observado en los casos de sepsis neonatal originados por bacterias gramnegativas, puede explicarse por la disminución de la hemoglobina corpuscular debida al aumento del secuestro reticuloendotelial de hierro; o por aumento del volumen corpuscular a causa del incremento en la proporción de reticulocitos circulantes, por la hemólisis.

En los casos de sepsis originada por bacterias gramnegativas se observó un recuento plaquetario menor, así como un descenso del volumen plaquetario medio; este último, además, mostró una relación lineal inversa con la probabilidad de infección por tales microorganismos (**Figura 3e**). Esto sugiere que durante las infecciones sistémicas por microorganismos gramnegativos, a la trombocitopenia periférica inducida por la sepsis se añade un componente central, cuyo efecto es un descenso más profundo del recuento

plaquetario, acompañado de reducción de la proporción de plaquetas jóvenes en la circulación, que ocasiona un descenso del volumen plaquetario medio. El fenómeno contrario parece ocurrir durante la sepsis causada por *Staphylococcus coagulasa negativo*, en la que el descenso del recuento plaquetario quizá se explique por un mecanismo periférico aislado, cuyo efecto es el incremento del volumen plaquetario medio y menor incidencia de trombocitopenia franca.<sup>9</sup>

Este estudio tiene una validez externa limitada por varios factores. Debido a la necesidad de identificación microbiológica, no se incluyeron casos de sepsis con cultivo negativo. Sin embargo, no existe evidencia que sugiera diferencias en las causas de la sepsis con y sin confirmación por cultivo, pues es probable que la carga bacteriana sea el factor que de manera más importante determina el aislamiento.<sup>14</sup> Las causas de la sepsis neonatal varían en función del hospital y del tiempo, y es importante considerar que la población de neonatos atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría tiene características muy diversas, que frecuentemente difieren de las de los neonatos atendidos en otros hospitales, pues presentan un espectro de patologías diferente, son objeto de procedimientos invasivos con mayor frecuencia y siempre nacen extramuros. Por esta razón los desenlaces de este estudio podrían no ser aplicables en otros entornos médicos.

Las principales amenazas a la validez interna de este estudio son consecuencia de su naturaleza retrospectiva. No se tiene certeza del momento de inicio de la sospecha clínica de sepsis neonatal, por lo que se tuvo que partir del momento de la toma de muestra para el hemocultivo. Además, existió variabilidad con respecto al momento de la toma de muestra para la biometría hemática, lo que podría modificar los desenlaces debido a los cambios dinámicos en los parámetros hematológicos. Si bien en la práctica es habitual descartar los cultivos que muestran crecimiento de microorganismos

contaminantes, la sepsis neonatal puede originarse por una amplia variedad de bacterias que colonizan la piel. Por eso no fue posible discernir de forma retrospectiva entre el crecimiento por contaminación del medio de cultivo o por una verdadera bacteriemia; por ello se incorporaron al análisis todos los resultados positivos.

La biometría hemática contiene elementos que aportan información del probable microorganismo implicado en la sepsis neonatal. Esta calculadora facilita la tarea de integrar diversos parámetros hematológicos, asignando un peso adecuado a cada uno de ellos y estimando el riesgo de participación de bacterias gramnegativas para asistir en la toma de decisiones. Sin embargo, aún es necesario estudiar los factores que podrían ayudar a pronosticar el patrón de sensibilidad a los antimicrobianos del agente causal, con el objetivo de ajustar más eficazmente el tratamiento empírico con antibióticos en pacientes con sepsis neonatal.

## CONCLUSIONES

Mediante la utilización de parámetros hematológicos medidos al momento de la sospecha clínica de sepsis neonatal es posible predecir la probabilidad de que el agente causal sea una bacteria gramnegativa.

## Apéndice A

Enlace a la calculadora de sepsis neonatal por bacterias gramnegativas (<http://sepsisneonatal.org>)

## REFERENCIAS

- Rodríguez-Weber MA, et al. Neonatal sepsis morbidity and mortality in a tertiary care hospital. *Salud Publica Mex.* 2003; 45 (2): 90-5. doi. 10.1016/s0022-3476(96)70254-8
- Cordova-Flores M. Etiología de la sepsis neonatal en el Instituto Nacional de Pediatría durante diez años (2002-2012) [Tesis]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.
- Casellas JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Panam Salud Publica.* 2011; 30 (6): 519-28.
- Feezor RJ, et al. Molecular characterization of the acute inflammatory response to infections with gram-negative versus gram-positive bacteria. *Infect Immun.* 2003; 71 (10): 5803-13. doi. 10.1128/iai.71.10.5803-5813.2003.
- Venkatesh MP, Garcia-Prats JA. Management of neonatal sepsis by Gram-negative pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008; 6 (6): 929-38. doi. 10.1586/14787210.6.6.929.
- Goyette RE, et al. Hematologic changes in sepsis and their therapeutic implications. *Semin Respir Crit Care Med.* 2004; 25 (6): 645-59. doi. 10.1055/s-2004-860979.
- Abe R, et al. Gram-negative bacteremia induces greater magnitude of inflammatory response than Gram-positive bacteremia. *Crit Care.* 2010; 14 (2): R27. doi. 10.1186/cc8898.
- François B, et al. Thrombocytopenia in the sepsis syndrome: role of hemophagocytosis and macrophage colony-stimulating factor. *Am J Med.* 1997;103(2):114-20. doi. 10.1016/s0002-9343(97)00136-8.
- Guida JD, et al. Platelet count and sepsis in very low birth weight neonates: is there an organism-specific response? *Pediatrics* 2003; 111 (6 Pt 1): 1411-5. doi. 10.1542/peds.111.6.1411.
- Peñailillo A, et al. Haematological and blood biochemical changes induced by the administration of low doses of *Escherichia coli* lipopolysaccharide in rabbits. *Archivos de Medicina Veterinaria* 2016; 48: 315-20.
- Mayo Clinic Laboratories. Rochester: Mayo Foundation for Medical Education and Research; 2013 Jul. Complete Blood Count Normal Pediatric Values; 2014 Ago; [cerca de 1 pantalla]. <http://a1.mayomedicallaboratories.com/webjc/attachments/110/30a2131-complete-blood-count-normal-pediatric-values.pdf>.
- Kliegman RM, et al. Nelson. *Tratado de Pediatría.* 20 ed. Barcelona: Elsevier, 2016; 4924.
- World Health Organization South-East Asia. Geneva: World Health Organization; 2013 Abr. Sex Ratio; 2013 Abr [citado 2020 Jul 24]; [cerca de 2 pantallas]. [http://origin.searo.who.int/entity/health\\_situation\\_trends/data/chi/sex-ratio/en/](http://origin.searo.who.int/entity/health_situation_trends/data/chi/sex-ratio/en/).
- Schelonka RL, et al. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J Pediatr.* 1996; 129 (2): 275-8. doi. 10.1016/s0022-3476(96)70254-8.