

**LIANE CARVALHO VIANA**

**Elaboração e validação de escore clínico diagnóstico de sepse neonatal  
precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer**

Tese aprovada pelo colegiado do Doutorado em Medicina Tropical, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vera Magalhães

Co-orientador: Prof. Dr. Constantino G. Braga Cartaxo

Recife / PE

2009

## **Viana, Liane Carvalho**

**Elaboração e validação de escore clínico diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer / Liane Carvalho Viana. – Recife : O Autor, 2009.**

**148 folhas: il., fig., tab., quadros**

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2009.

**Inclui bibliografia, apêndices e anexos**

- 1. Medicina tropical – Infecção neonatal – Diagnóstico.**
- 2. Septicemia – Prematuridade – Escore e validação. Título.**

**616.94**

**CDU (2.ed.)**

**UFPE**

**616.94**

**CDD (22.ed.)**

**3C - 2009 - 037**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)<sup>1</sup>

**RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA**

**LIANE CARVALHO VIANA**

No dia 13 de fevereiro de 2009, às 14h00, na Sala Prof. Murillo La Greca no 3º. and do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE), os Membros Doutores: **Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes (UFPE – Membro Interno)**, o **Prof. Dr. Antônio Carvalho da Paixão (UFS – Membro Externo)**, a **Profa. Dra. Maria Cynthia Braga (CPqAM/FIOCRUZ – Membro Externo)**, o **Prof. Dr. Paulo Neves Baptista Filho (UPE – Membro Externo)** e a **Profª. Drª. Silvia Wanick Sarinho (UFPE – Membro Externo)**, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram a doutoranda **LIANE CARVALHO VIANA** sobre a sua Tese intitulada “**ELABORAÇÃO E VALIDAÇÃO DE ESCORE CLÍNICO DIAGNÓSTICO DE SEPSE NEONATAL PRECOCE EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO COM BAIXO PESO AO NASCER**”. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

**Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes**

*Aprovado*

**Prof. Dr. Antônio Carvalho da Paixão**

*Aprovado*

**Profª. Drª. Maria Cynthia Braga**

*Aprovado*

**Prof. Dr. Paulo Neves Baptista Filho**

*Aprovado*

**Profª. Drª. Silvia Wanick Sarinho**

*Aprovado*

*Ricardo Arraes de Alencar Ximenes*  
**Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes**

*Antônio Carvalho da Paixão*  
**Prof. Dr. Antônio Carvalho da Paixão**

*Maria Cynthia Braga*  
**Profª. Drª. Maria Cynthia Braga**

*Paulo Neves Baptista Filho*  
**Prof. Dr. Paulo Neves Baptista Filho**

*Silvia Wanick Sarinho*  
**Profª. Drª. Silvia Wanick Sarinho**

<sup>1</sup> Endereço: Av. Prof. Moraes Rêgo, s/n – Bloco A – Térreo do Hospital das Clínicas da UFPE. CEP.: 50670-420, Cidade Universitária, Recife-PE. Fone/Fax: (081) 2126.8527. Sítio: <http://www.ufpe.br/ppgmedtrop>

Dedico esse trabalho,

Ao meu pai, Paulo (in memória), e a minha mãe,  
Maria da Penha, pelo exemplo de integridade e  
empenho em minha educação.

Aos meus filhos, Felipe e Mariana, que são o  
que há de mais belo e importante em minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, força maior presente em todos os momentos de minha vida.

A Fábio, pelo companheirismo e paciência com que me incentivou.

Aos meus irmãos Hélio, Elcio, Ivandro e Osvaldo, no carinho que recebo deles sinto a presença de meu pai estimulando meus projetos.

À Dra. Vera Magalhães, pelo apoio na orientação desta pesquisa.

Ao Dr. Giovanni Constantino, Co-orientador, grande amigo e incentivador do meu aprimoramento científico desde meu mestrado, pela participação em todas as etapas deste trabalho de doutorado.

Ao Professor Dr. João Agnaldo, pela participação na análise estatística dos dados da pesquisa, por sua parceria desde o meu mestrado.

Ao Professor Dr. Ricardo Ximenes, em nome do qual agradeço ao Corpo Docente do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, pela dedicação na formação acadêmica de pesquisadores.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, Sr. Walter Galdino e Sr<sup>a</sup>. Jupira Ramos, pela acolhida carinhosa aos doutorandos imigrantes da Paraíba.

A todos os que fazem o Instituto Cândida Vargas (ICV), que colaboraram para a coleta dos dados da pesquisa desde meu mestrado e agora durante o doutorado.

Aos três especialistas que definiram os casos de sepse clínica da pesquisa: Dr. João Medeiros Filho, Dra. Eliane Brito e Dra Suzana Ferraz.

À Dra. Marluce Vasconcelos, proprietária do laboratório Marluce Vasconcelos, pela valiosa contribuição na realização das hemoculturas e pela disponibilidade para os esclarecimentos sobre os exames de bacteriologia dos participantes da pesquisa.

Ao Dr. Wamberto Costa, pela análise e laudo dos exames radiológicos dos participantes da pesquisa.

Às pediatras Dra. Shamyá, Dra. Jaqueline e Dra. Livia, pela contribuição na elaboração e padronização dos formulários com os dados do nascimento e evolução no berçário e UTIN, posteriormente adotados como prontuários.

À Professora Rosângela Carvalho Guerra, pela revisão do inglês.

À professora Eugênia Carvalho, pela revisão do português.

A todos os colegas do doutorado, pela oportunidade enriquecedora na troca de conhecimentos.

Ao amigo, Dr. Antônio Nunes Filho, professor da UFPE, por sua hospitalidade e apoio durante os períodos de permanência em Recife.

Aos colegas do Departamento de Pediatria e Genética da Universidade Federal da Paraíba, por possibilitarem meu afastamento durante a realização do doutorado.

Aos responsáveis pelos pacientes que permitiram a participação dos mesmos na pesquisa.

***Se alguém pensa que sabe alguma coisa, ainda  
não conhece nada como convém conhecer.***

***(I Coríntios 8, 2)***

## RESUMO

VIANA, L. C. **Elaboração e validação de escore clínico diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer.** 2009. 148f. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

O diagnóstico de sepse neonatal precoce (SNP) em recém-nascidos pré-termo (RNPT) com baixo peso ao nascer (BPN) oferece grande dificuldade, porque as primeiras manifestações clínicas da doença nesses pacientes são confundidas com os da própria prematuridade. Os RNPT, com peso ao nascer entre 1000 e 2499g, admitidos no berçário e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Instituto Cândida Vargas, João Pessoa – Paraíba, Brasil, de abril - 2006 a maio - 2008, com risco ou suspeita de infecção, foram acompanhados prospectivamente até 72 horas de vida para detectar sepse. Esta tese consta de dois artigos. O primeiro tratou de elaborar escore clínico para o diagnóstico de SNP em RNPT com BPN. O estudo foi do tipo caso-controle, aninhado de uma coorte. Inicialmente, foi calculado o *odds ratio* (OR), com respectivos intervalos de confiança 95% (IC95%), de cada variável clínica presente em cada RNPT da amostra com diagnóstico de sepse definido através da concordância entre especialistas. As variáveis com OR apresentando valor *p* do teste exato de Fisher  $< 0,25$  foram incluídos em modelo de regressão logística para desenvolver o escore. As variáveis com valor *p*  $< 0,05$  compuseram o escore. A pontuação das variáveis do escore deu-se pelo valor mínimo do IC95% do OR. A amostra foi composta por 284 RNPT com BPN, foram excluídos 15 por falta de exames laboratoriais. Sessenta e sete RNPT (23,6%) foram considerados como sepse através da concordância entre especialistas. Treze variáveis clínicas foram analisadas em modelo de regressão logística que resultou em escore composto por cinco variáveis: apnéia, alteração de perfusão, resíduo gástrico, hipotonia e instabilidade térmica. As variáveis apnéia, alteração de perfusão e resíduo gástrico, que apresentaram valor mínimo do IC95% do OR maior que quatro, receberam dois pontos no escore, e as demais, com menor valor, receberam um ponto. O segundo artigo tratou de estudo de validação de teste diagnóstico, definido como fase III. Para validação do novo escore, o padrão de referência usado para definir sepse foi a hemocultura. Os pontos de corte do novo escore foram aplicados em outra população de 367 RNPT com BPN, com risco ou suspeita de infecção, e comparados de maneira independente e mascarada, com os resultados das hemoculturas. A escolha do melhor ponto de corte deu-se pelo melhor valor da sensibilidade em relação à especificidade. Foram excluídos três RNPT, por não apresentarem clínica de sepse, apesar de não terem recebido antibióticos e com hemocultura positiva. Setenta RNPT com BPN tiveram o diagnóstico de sepse por hemocultura positiva. O ponto de corte dois do escore ao ser comparado com as hemoculturas mostrou o melhor valor de sensibilidade em relação à especificidade para o diagnóstico de SNP na população estudada. Concluiu-se que o escore possui fácil aplicabilidade na prática diária, por ser composto por variáveis clínicas comumente avaliadas. Sua validação mostrou ser dois o melhor ponto de corte e seu uso pode permitir informações adicionais, com relação a iniciar antibioticoterapia quando positivo, e não fazê-lo quando negativo, enquanto prossegue a investigação diagnóstica.

**Palavras-chave:** Baixo peso. Diagnóstico. Escore. Recém-nascido pré-termo. Sensibilidade. Especificidade. Sepse. Validação.

## ABSTRACT

VIANA, L. C. **Development and validity of a clinical score for the diagnosis of early-onset neonatal sepsis in low birth weight premature newborns.** 2009. 140f. Doctoral Thesis – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife

The diagnosis of early-onset neonatal sepsis (EONS) in premature newborns with low birth weight (LBW), represents a difficult because the first clinical manifestations of the disease in these patients are similar to the signs of the own prematurity. The premature newborns with birth weight 1000 to 2499g, admitted at the Nursery and Neonatal Intensive Care Unit of the Instituto Cândida Vargas, João Pessoa – Paraíba, Brazil, from April 2006 to May 2008, at risk or suspected of infection, were followed for the first 72 hours of life to detect sepsis. This thesis contains two articles. The first one was conducted to develop a clinical score, for the diagnosis of EONS, in premature newborns with LBW. It was a case-control study nested from a coorte. Initially, the *odds ratio* (OR) and 95% confidence interval (95%CI) of each clinical sign, present in each premature newborn with LBW, and diagnosis of sepsis defined by the agreement among experts were calculated. The variables with Fisher's exact test p-value of the OR < 0.25, were subjected to logistic regression analysis to develop the score. The variables with p-value < 0.05 composed the score. The points of the variables of the score were given by the minimal value of 95%CI of the OR. The sample was composed of 284 premature newborns with LBW, 15 of them were excluded because they had no laboratory data. Sixty-seven premature newborns with LBW (23.6%) had the diagnosis of EONS by the agreement among experts. Thirteen clinical variables were entered into a logistic regression model which derived in a score with five of them: apnea, poor perfusion, gastric residuals, hypotonia and thermal instability. The variables apnea, poor perfusion and gastric residuals, with minimal 95%CI higher than four, were scored two, and those lower than that, were scored one. The second article was a phase III diagnostic research study. To validate the new score, the reference pattern to define sepsis was blood culture. The cut-off points of the new score were applied in another population of 367 premature newborns with LBW, at risk or suspicion of infection, and were compared in an independent and blinded way with the blood culture results. The best cut-off point was chosen by the best value of sensitivity in relation with the specificity. Three premature newborns were excluded because they had no clinical signs of sepsis in spite of not having received any antibiotic and having presented positive blood culture. Seventy premature newborns with LBW had the diagnosis of EONS by positive blood culture. The score cut-off point of two when compared to blood culture showed the best sensitivity in relation of the specificity for the diagnosis of EONS in the study population. The conclusion was that the score has easy applicability in the daily practical, because it is composed of clinical variables commonly evaluated. The score validation showed that the best cut-off point was two, and its use can provide further information in relation to initiating antibiotic therapy when positive, and not doing it, when negative, while the diagnosis investigation continues.

**Keywords:** Low birth weight. Diagnosis. Score. Premature newborns. Sensitivity. Specificity. Sepsis. Validation.

## LISTA DE QUADROS

|                                                                                                                                         |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Quadro 1 – Termos utilizados na definição de sepse clínica.....                                                                         | 27    |
| Quadro 2 – Definições de sepse neonatal na ausência de hemocultura positiva, segundo diferentes estudos. ....                           | 29-30 |
| Quadro 3 – Sepse neonatal precoce na ausência de hemocultura positiva.....                                                              | 31    |
| Quadro 4 – Infecção Primária da Corrente Sanguínea e Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, sem confirmação microbiológica.....  | 32    |
| Quadro 5 – Infecção Primária da Corrente Sanguínea e Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, com confirmação microbiológica. .... | 33-34 |
| Quadro 6 – Definição das variáveis da pesquisa .....                                                                                    | 48-49 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 4.1 - Comparação entre as amostras para elaborar e para validar o escore, com relação às variáveis e a presença ou ausência de sepse neonatal precoce, em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer- ICV João Pessoa – Abril-2006 a Maio-2008 ..... | 54 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

### ARTIGO 1 - Elaboração de escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo de baixo peso ao nascer

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Características da população estudada em relação à presença ou ausência de sepse neonatal precoce .....                                          | 63 |
| Tabela 2 – Variáveis associadas à sepse neonatal precoce, incluídas no modelo de regressão logística .....                                                  | 64 |
| Tabela 3 – Escore preditivo para diagnóstico de sepse neonatal precoce em pré-termo de baixo peso ao nascer derivado de análise multivariada .....          | 64 |
| Tabela 4 – Análise da concordância dos especialistas para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer..... | 65 |

### ARTIGO 2 - Validação de escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Escore clínico para diagnóstico de sepse neonatal precoce em pré-termo de baixo peso ao nascer derivado de análise multivariada ..... | 75 |
| Tabela 2 – Características da população estudada em relação à presença ou à ausência de sepse neonatal precoce .....                             | 77 |
| Tabela 3 – Validação do escore para diagnóstico de sepse neonatal precoce em prematuros de baixo peso em relação às hemoculturas .....           | 77 |

## **LISTA DE FIGURAS / GRÁFICOS**

|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Modelo de tabela 2x2, utilizado para interpretar os dados estatísticos do teste diagnóstico .....                                          | 39 |
| Figura 2 – Algoritmo da pesquisa .....                                                                                                                | 56 |
| Gráfico 1 - Número de hemoculturas realizadas nos recém-nascidos do ICV – João Pessoa - ano 2005 e durante realização da pesquisa (2006 – 2008) ..... | 88 |

## LISTA DE SIGLAS

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| ACCP   | <i>American College of Chest Physicians</i>                     |
| AL     | Alagoas                                                         |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                        |
| CDC    | <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>               |
| ICV    | Instituto Cândida Vargas                                        |
| NICHD  | <i>National Institute of Child Health and Human Development</i> |
| OMS    | Organização Mundial de Saúde                                    |
| SCCM   | <i>Society of Critical Care Medicine</i>                        |
| WHO    | Organização Mundial de Saúde                                    |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|         |                                                |
|---------|------------------------------------------------|
| Bpm     | Batimentos por minutos                         |
| CIVD    | Coagulação intravascular disseminada           |
| FC      | Frequência cardíaca                            |
| FR      | Frequência respiratória                        |
| h       | Horas                                          |
| Ipm     | Incursões por minuto                           |
| ITU     | Infecção do trato urinário                     |
| IPCS    | Infecção Primária de Corrente Sanguínea        |
| IRAS    | Infecção Relacionada à Assistência à Saúde     |
| LCR     | Líquor                                         |
| PAM     | Pressão arterial média                         |
| OR      | <i>Odds ratio</i>                              |
| PCR     | Proteína C reativa                             |
| RN      | Recém-nascidos (s)                             |
| RNPT    | Recém-nascidos (s) pré-termo                   |
| ROC     | <i>Receiver Operating Characteristic Curve</i> |
| RUPREMA | Ruptura prematura de membrana amniótica        |
| RV      | Razão de Verossimilhança                       |
| RV-     | Razão de Verossimilhança negativa              |
| RV+     | Razão de Verossimilhança positiva              |
| SRIS    | Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica    |
| SNP     | Sepse neonatal precoce                         |
| UTIN    | Unidade de Terapia Intensiva Neonatal          |

|      |                                 |
|------|---------------------------------|
| VHS  | Velocidade de hemossedimentação |
| VPN  | Valor preditivo negativo        |
| VPP  | Valor preditivo positivo        |
| YIOS | <i>Yale Observation Scale</i>   |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|                    |                                   |
|--------------------|-----------------------------------|
| $\beta$            | Beta                              |
| cm                 | Centímetros                       |
| g                  | Grama                             |
| mg / dl            | Miligrama por decilitro           |
| °C                 | Graus Celsius                     |
| L                  | Litro                             |
| L / min            | Litros por minuto                 |
| >                  | Maior                             |
| $\geq$             | Maior ou igual                    |
| <                  | Menor                             |
| $\leq$             | Menor ou igual                    |
| mm <sup>3</sup>    | Milímetro cúbico                  |
| mmHg               | Milímetro de mercúrio             |
| $\mu\text{g}$ / dl | Micrograma por decilitro          |
| PaCO <sup>2</sup>  | Pressão arterial de gás carbônico |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 APRESENTAÇÃO .....                                                                                                                               | 20 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA .....                                                                                                                      | 22 |
| 2.1 Sepses neonatal: incidência e mortalidade .....                                                                                                | 23 |
| 2.2 Fatores de risco para sepses neonatal precoce .....                                                                                            | 25 |
| 2.3 Dificuldades na definição e diagnóstico de sepses .....                                                                                        | 26 |
| 2.4 Classificação da sepses neonatal .....                                                                                                         | 34 |
| 2.5 Estudos sobre testes para diagnóstico de infecção neonatal .....                                                                               | 35 |
| 2.6 Testes diagnósticos: análise .....                                                                                                             | 36 |
| 2.7 Elaboração de escore .....                                                                                                                     | 41 |
| 2.8 Estudos de validação .....                                                                                                                     | 42 |
| 2.9 Padrão ouro .....                                                                                                                              | 43 |
| 3 OBJETIVOS .....                                                                                                                                  | 45 |
| 4 MÉTODOS .....                                                                                                                                    | 47 |
| 4.1 Tipo de estudo .....                                                                                                                           | 48 |
| 4.2 Local e período do estudo .....                                                                                                                | 48 |
| 4.3 População do estudo .....                                                                                                                      | 48 |
| 4.4 Variáveis do estudo .....                                                                                                                      | 49 |
| 4.5 Definição de caso de sepses neonatal precoce do estudo .....                                                                                   | 51 |
| 4.6 Tamanho da amostra .....                                                                                                                       | 52 |
| 4.7 Coleta dos dados .....                                                                                                                         | 53 |
| 4.8 Armazenamento e análise dos dados .....                                                                                                        | 53 |
| 4.8.1 Análise dos dados: fase descritiva .....                                                                                                     | 54 |
| 4.8.2 Análise dos dados: fase analítica .....                                                                                                      | 54 |
| 4.9 Divisão da amostra .....                                                                                                                       | 54 |
| 4.10 Fluxograma da Pesquisa .....                                                                                                                  | 56 |
| 5 ARTIGO 1 Elaboração de escore clínico para o diagnóstico de sepses neonatal<br>precoce em recém-nascidos pré-termo de baixo peso ao nascer ..... | 57 |
| Resumo .....                                                                                                                                       | 59 |
| Introdução .....                                                                                                                                   | 59 |
| Métodos .....                                                                                                                                      | 60 |
| Resultados .....                                                                                                                                   | 63 |
| Discussão .....                                                                                                                                    | 65 |

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| O que já era conhecido e o que o estudo adiciona .....                                                                               | 68 |
| Referências .....                                                                                                                    | 69 |
| 6 ARTIGO 2 –Validação de escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo de baixo peso ..... | 71 |
| Sumário.....                                                                                                                         | 73 |
| Introdução .....                                                                                                                     | 73 |
| Materiais e Métodos .....                                                                                                            | 74 |
| Resultados .....                                                                                                                     | 76 |
| Discussão .....                                                                                                                      | 78 |
| Referências .....                                                                                                                    | 82 |
| 7 CONCLUSÕES .....                                                                                                                   | 84 |
| 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                                                                         | 86 |
| 9 REFERÊNCIAS .....                                                                                                                  | 89 |

## APÊNDICES

|                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....                                                       | 94  |
| B – Formulário com dados do nascimento .....                                                               | 95  |
| C – Formulário com dados da evolução no berçário .....                                                     | 97  |
| D – Formulário com dados da evolução na UTIN .....                                                         | 99  |
| E – Manual com definição e categorização das variáveis a serem pesquisadas na anamnese e exame físico..... | 101 |
| F – Manual com padronização da técnica de coleta do sangue dos recém-nascidos na UTIN e berçário .....     | 104 |
| G – Formulário para digitação do banco de dados .....                                                      | 105 |
| H – Formulário de avaliação pelos especialistas dos dados dos recém-nascidos participantes do estudo.....  | 107 |
| I – Versão em inglês do artigo I enviado ao Indian Pediatrics .....                                        | 111 |
| J – Versão em inglês do artigo II enviado ao Journal of Tropical Pediatrics .....                          | 126 |

## ANEXOS

|                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| A – Aprovação na Comissão de Ética em Pesquisas do Hospital Universitário Lauro Wanderley ..... | 139 |
| B – Normas para publicação no Indian Pediatrics .....                                           | 140 |

|     |                                                                        |     |
|-----|------------------------------------------------------------------------|-----|
| C – | Confirmação de envio do artigo ao Indian Pediatrics .....              | 145 |
| D – | Normas para publicação no Journal of Tropical Pediatrics .....         | 146 |
| E – | Confirmação de envio do artigo ao Journal of Tropical Pediatrics ..... | 148 |

## 1 APRESENTAÇÃO

Como neonatologista, trabalhando em maternidades e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN), foi possível evidenciar a grande dificuldade dos profissionais em estabelecer o diagnóstico de sepse neonatal nos primeiros dias de vida. Em se tratando de recém-nascidos pré-termo (RNPT), a dificuldade aumenta, pois os sinais de sepse neonatal precoce (SNP) confundem-se com a clínica da própria prematuridade. Os dados laboratoriais são difíceis de interpretar e devem ser seriados, o que constitui problema em RNPT com baixo peso, devido à espoliação por punções venosas repetidas. Além do que, a confirmação bacteriológica da infecção através de hemocultura dificilmente está disponível em todos os serviços, apresenta baixa sensibilidade e seu resultado não é obtido precocemente (KAFTAN, 1998; ESCOBAR, 1999; GERDES, 2004).

Pela alta mortalidade, o diagnóstico e o tratamento precoce contribuem favoravelmente para o prognóstico da SNP. A ausência na literatura de modelo clínico da doença em RNPT e a importância da melhor acurácia em seu diagnóstico motivaram o presente estudo, a partir da indagação de quais os sinais clínicos que presentes em prematuros estariam mais associados à doença, e se seria possível elaborar e validar modelo clínico diagnóstico a partir dos mesmos.

O objetivo do estudo foi elaborar e validar um instrumento que possa permitir julgamento clínico para determinar quais os RNPT em risco ou suspeita de sepse, que devem ter antibioticoterapia iniciada e quais os que devem ser continuamente monitorados quanto ao aparecimento da doença, sem a necessidade de tratamento com antibióticos.

O que se espera com a pesquisa é que o instrumento elaborado e validado permita em RNPT com alterações clínicas possíveis de associação com SNP iniciar o tratamento, enquanto, a investigação laboratorial e microbiológica confirma ou afasta a doença.

Por outro lado, na ausência de alterações clínicas que permitam a positividade do escore, o RNPT continuará sob vigilância quanto ao aparecimento da SNP, mas sem receber antibióticos.

Os benefícios esperados são iniciar precocemente o tratamento e usar mais criteriosamente antibiótico, o que leva à redução de crescimento de microrganismos com resistência bacteriana nas unidades neonatais, dos custos com internação hospitalar, de

infiltração com medicação intravenosa, de prejuízo na interação mãe-filho por stress materno e familiar devido à internação prolongada e punções venosas repetidas.

## **REVISÃO DA LITERATURA**

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Sepse neonatal: incidência e mortalidade**

Embora a mortalidade infantil tenha declinado desde 1955 em mais que 50%, a mortalidade neonatal nos países mais pobres ainda contribui com grande proporção das mortes em crianças menores que cinco anos de idade (STOLL, 2001). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que aproximadamente cinco milhões de neonatos morram por ano e que 98% dessas mortes ocorram em países em desenvolvimento. É estimado que 30-40% das mortes neonatais estejam relacionadas com infecções neonatais. Assim, dos dois milhões de mortes ocorridas no período neonatal por ano, cerca de cinco mil mortes por dia são decorrentes de infecção (WHO, 1999).

As causas de mortes no período neonatal, nos países em desenvolvimento são difíceis de determinar, pois, muitas ocorrem em casa, sem atendimento médico e sem causa definida. Dentre as causas de morte neonatal, a SNP tem grande importância (STOLL et al., 2002), mas, é subestimada devido à imprecisão diagnóstica (STOLL, 2001).

A frequência de sepse neonatal varia de acordo com as diferentes definições da doença utilizadas nos estudos. Assim, a incidência é maior ao considerar a doença a partir de dados clínicos e/ou laboratoriais, e menor, quando exige a positividade de cultura de sangue ou líquido céfalo-raquidiano (LCR).

A incidência de sepse neonatal confirmada por hemocultura varia de 1 a 10 casos / 1000 nascidos vivos, com letalidade entre 10 e 50% (GERDES, 1991; VIEIRA et al., 1997; KAFTAN; KINNEY, 1998; MARTIUS et al., 1999; WHO, 1999; POLIN, 2003). A doença pode acometer de acordo com o peso ao nascer, até 30 por 1000 nascidos vivos quando se consideram apenas os recém-nascidos (RN) de muito baixo peso, e pode ultrapassar 30% considerando o nível de assistência em UTIN (RUGOLO, 2000).

Aproximadamente 60 - 80% das infecções neonatais bacterianas provenientes da mãe manifestam-se dentro das primeiras 24h de vida, com taxa de casos fatais de 13 a 69%. Por esse motivo, esforços para controlar a mortalidade neonatal, em países em desenvolvimento,

têm-se concentrado em melhorar os cuidados na gestação para diminuir o risco de infecção perinatal (STOLL, 2001).

Singh et al. (1994) estudaram 100 RN com um ou mais fator de risco para infecção e encontraram incidência de 32% de sepse comprovada por hemocultura em RN de baixo peso ao nascer, na primeira semana de vida.

Stoll et al. (1996) encontraram 1,9% de sepse neonatal precoce confirmada por uma ou mais hemocultura positiva colhida até 72h do nascimento, na presença de sinais ou sintomas sugestivos de infecção em coorte de 7861 RN com peso ao nascer entre 401 e 1500g, admitidos em 12 centros do *National Institute of Child Health and Human Development* (NICHD) *Neonatal Research Network*. O estudo reconhece a dificuldade em excluir sepse em RNPT sintomáticos com hemocultura negativa e a necessidade de incrementar estratégias para o diagnóstico da doença.

Ferraz (2000), em estudo retrospectivo de 1710 RN no Instituto Materno Infantil de Pernambuco, definiu como sepse presumida, os RN com sinais clínicos suspeitos de sepse nos quais foi realizada investigação e iniciada terapêutica antimicrobiana pelos neonatologistas em 54 / 1000 nascidos vivos (5,4%). A incidência de sepse provada, definida como diagnóstico clínico de sepse com hemocultura positiva, foi de 10,5 / 1000 nascidos vivos (1,0%). A não-realização de exames em todos os recém-nascidos investigados foi considerada como dificuldade para estabelecer o diagnóstico de sepse e as diferentes incidências de sepse neonatal encontradas decorreram dos diferentes critérios de definição diagnóstica.

Herrmann (2003) avaliou o comportamento na sepse precoce, de marcadores inflamatórios, ao acompanhar 102 RNPT, na Maternidade Escola Santa Mônica, em Maceió – AL. Foram excluídos: RN com peso < 1000g, portadores de anomalias congênitas múltiplas e de infecções congênitas. O estudo considerou como sepse precoce os pacientes com sepse provada por hemocultura (10,4%) e os com sinais clínicos de infecção associados a alterações laboratoriais e hemocultura negativa (47%).

Estudo de Mussi-Pinhata et al. (2004), com objetivo de detectar a frequência de infecção bacteriana em 261 RN com desconforto respiratório, considerou: infecção confirmada os casos com cultura positiva de sangue ou LCR; infecção presumida os casos com culturas de sangue e urina negativas e teste de aglutinação pelo látex para *Estreptococo* do grupo B positiva; e infecção suspeita os casos com cultura e teste do látex negativos, com pneumonia confirmada radiologicamente e / ou escore de Rodwell maior ou igual a três. Foram excluídos: casos de desconforto respiratório com duração menor que 24h após seu diagnóstico; síndrome de aspiração; malformações pulmonares, cardíacas ou de sistema

nervoso central. Os dados maternos e sobre gestação foram obtidos por entrevista e em prontuários médicos. Como resultado foi confirmado infecção por hemocultura em 11% dos casos e por cultura de LCR em 1,5%.

Como é possível perceber, a incidência e a mortalidade de sepse neonatal variam de acordo com a idade gestacional e o peso ao nascer, bem como pela definição adotada na pesquisa. Sendo importante identificar um ou mais fator de risco para a doença que possam contribuir para suspeita diagnóstica inicial.

## **2.2 Fatores de Risco para sepse neonatal precoce**

Usualmente na sepse neonatal precoce, há relato de um ou mais fatores de risco associados com gravidez ou parto como: trabalho de parto prematuro, ruptura prematura de membranas (RUPREMA) maior que 18-24h, febre materna, sinais de corioamnionite, parto contaminado ou traumático, asfíxia perinatal, recém-nascido prematuro ou com baixo peso ao nascer. Em caso de gemelaridade, o primeiro gêmeo tem maior risco de infecção ascendente, sendo esta uma situação de risco referida para o estreptococo do grupo B (MIURA et al., 1999; RUGOLO, 2000; PROCIANNOY; SILVEIRA, 2004).

O principal fator de risco para SNP é a RUPREMA maior que 18-24h, especialmente quando associada com outros fatores como: idade gestacional menor que 34 semanas ou peso ao nascimento menor que 1500g, corioamnionite, colonização genital materna por estreptococo do grupo B e asfíxia perinatal, representada por escore de Apgar menor que seis aos cinco minutos. Na presença de bolsa rota associada a dois ou mais fatores de risco, mesmo em recém-nascido assintomático, recomenda-se a realização de exames laboratoriais para investigar sepse e início de antibioticoterapia, que deverá ser suspensa caso não se confirme a doença (RUGOLO, 2000).

Gerdes (1991) observou que a combinação de dois ou mais fatores de risco ou a história de corioamnionite aumenta o índice de suspeita de SNP. Porém, o diagnóstico clínico de corioamnionite é difícil, com achados não-específicos e deve ser suspeitado na presença de: febre materna, hipertonia uterina, líquido amniótico purulento ou com odor fétido, leucocitose materna ou ainda taquicardia fetal. Em geral, a incidência de sepse aumenta para  $\geq 5\%$  quando dois fatores de risco estão presentes em uma mesma criança. Porém a ausência

de fator de risco não deve impedir de tratar um RN sintomático com infecção, lembrar que fator de risco não é “fator de prova”.

Diagnosticar sepse neonatal precoce, especialmente em RNPT, é difícil. Por esse motivo, na presença de fator de risco materno e mínimos sinais clínicos é instituído tratamento com antibióticos de largo espectro até que resultados de testes laboratoriais e culturas permitam continuar ou não o tratamento. Esse fato decorre da alta mortalidade da doença e devido ao “padrão ouro” para detecção da sepse, a hemocultura, comumente ser negativa em número apreciável de casos devido à bacteremia intermitente, ao volume coletado de sangue insuficiente ou à falha no processamento do exame (POLIN, 2003).

O tratamento de neonatos com antibióticos, com base em sinais discretos ou apenas na presença de fator de risco, poderá resultar em uso indiscriminado de antibióticos. Essa prática favorece o desenvolvimento de resistência antimicrobiana, infiltrados venosos durante administração da medicação, elevado custo hospitalar e desgaste emocional dos pais (GERDES, 1991).

### **2.3 Dificuldades na definição e diagnóstico de sepse**

A literatura tenta sistematizar os achados clínicos para o diagnóstico de sepse neonatal e considera o isolamento do microorganismo patogênico em qualquer líquido ou secreção do organismo como padrão ouro, ou seja, o método mais específico para diagnóstico de sepse neonatal. Assim, se a hemocultura for positiva, o diagnóstico será de sepse provada e a sepse clínica é definida, quando na ausência de hemocultura existir sinais de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) sugestiva de infecção (MIURA, 2004).

Confirmar a presença de sepse através de testes microbiológicos além de demorado, nem sempre está disponível e apresenta baixa sensibilidade. Com relação aos testes laboratoriais, os mais usados para o diagnóstico de sepse neonatal são proteína C reativa (PCR) e leucometria, porém com baixa sensibilidade e especificidade no período neonatal (STOLL et al., 1996; KAFTAN; KINNEY, 1998; CARVALHO; TROTTA, 2003; MIURA, 2004; CHIESA et al., 2004; SHORT, 2004).

A contagem de leucócitos varia com a idade pós-natal, com o tipo de sangue coletado se foi arterial ou venoso e até com o choro vigoroso do RN (CHIESA et al., 2004).

Os marcadores de inflamação para diagnóstico de sepse além de caros e demorados, não são sensíveis, nem específicos o suficiente para decidir tratar ou suspender antibióticos (CARLET, 1999).

O quadro a seguir demonstra as mudanças nos diferentes critérios utilizados para definição de sepse clínica da literatura e as tentativas de adaptá-los à faixa etária pediátrica.

|                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bone (1991)                                                                           | <p>Presença de todos os sinais:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Taquipnéia (FR &gt; 20 ipm) e se paciente ventilado mecanicamente &gt; 10 L / min;</li> <li>➤ FC &gt; 90 bpm;</li> <li>➤ Temperatura central ou retal &gt; 38°C;</li> <li>➤ Temperatura central ou retal &lt; 35,5°C.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <p>Consenso ACCP / ACCM (1992)</p> <p>(FRIEDMAN, 2004; SHORT, 2004)</p>               | <p>Duas ou mais das seguintes condições:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ FR &gt; 20 ipm ou PaCO<sub>2</sub> &lt; 32 mmHg;</li> <li>➤ FC &gt; 90 bpm;</li> <li>➤ Temperatura &gt; 38 ° C ou &lt; 36°C;</li> <li>➤ Leucócitos &gt; 12000 /mm<sup>3</sup> ou &lt; 4000 / mm<sup>3</sup> ou mais de 10% de formas jovens.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <p>Consenso Internacional Sepse Pediátrica (2002)</p> <p>(GOLDSTEIN et al., 2005)</p> | <p>Dois dos seguintes critérios um dos quais deve ser anormalidade de temperatura central (medida via retal, oral ou através de cateter central &gt; 38,5°C ou &lt; 36°C) ou contagem de leucócitos elevada ou deprimida para idade (não secundária à quimioterapia) ou &gt; 10% de neutrófilos imaturos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Taquicardia (definida como a média de frequência cardíaca acima de dois desvios padrões para idade, na ausência de estímulos externos, drogas ou estímulo doloroso; ou persistente elevação inexplicada por mais que 0,5-4h) ou para crianças &lt; 1 ano de idade: bradicardia, definida como a média de frequência cardíaca &lt; percentil 10 para idade na ausência de estímulo externo vagal, droga beta bloqueadora, ou cardiopatia congênita, ou persistente depressão inexplicada por mais que meia hora;</li> <li>➤ Frequência respiratória &gt; dois desvios padrões para idade ou ventilação mecânica para processo agudo não relacionado com doença neuromuscular ou ter recebido anestesia geral.</li> </ul> |

Quadro 1 – Termos utilizados na definição de sepse clínica

Com relação aos critérios do Consenso do *American College of Chest Physicians* e da *Society of Critical Care Medicine* (ACCP / SCCM) de 1992, Carvalho e Trotta (2003) comentam que são inadequados e inespecíficos para pacientes pediátricos, quanto mais jovem a criança, o que torna difícil sua utilização na faixa etária neonatal. Diante de tal fato, foi

realizada uma tentativa de adaptação do Consenso ACCP / SCCM de 1992 para pediatria, porém sem ampla aceitação na literatura (CHIESA et al., 2004; SHORT, 2004).

Um Consenso Internacional sobre sepse analisou para faixa etária pediátrica os valores considerados fisiológicos para idade da: pressão sanguínea, frequência cardíaca e respiratória, e de dados laboratoriais como a contagem de leucócitos, que devem ser usados na definição de SRIS para diagnosticar sepse nessa população. Porém, em tal Consenso, não foram incluídos dados sobre RNPT, portanto, o diagnóstico de sepse deve ser mais explorado em populações neonatais (GOLDSTEIN et al., 2005).

O quadro a seguir demonstra os diferentes critérios clínicos e laboratoriais usados em estudos para definição de casos de sepse neonatal na ausência de hemocultura positiva.

|                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Singh et al. (1994)</p> <p>Elaboraram escore com fatores de risco preditivos de sepse neonatal</p>                                                                                             | <p>Presença de sinais clínicos de sepse e dois dos seguintes testes de triagem anormais:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Velocidade de hemossedimentação (VHS) <math>\geq 14</math> mm;</li> <li>➤ Índice neutrofílico <math>\geq 0,2</math>;</li> <li>➤ PCR <math>\geq 5\mu\text{g} / \text{dl}</math>;</li> <li>➤ Neutrofilia para idade.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <p>Messer et al. (1996)</p> <p>Estudo sobre interleucina -6 sérica e receptores de fator de necrose tumoral em RNT e RNPT</p>                                                                     | <p>Leucometria alterada e PCR elevada na presença de três das seguintes categorias de sintomas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Cardiovascular: taquicardia, bradicardia, perfusão ruim ou choque;</li> <li>➤ Instabilidade térmica;</li> <li>➤ Desconforto respiratório: gemência, retrações intercostais, apnéia, cianose;</li> <li>➤ Neurológicos: hipotonia ou letargia;</li> <li>➤ Gastrointestinais: intolerância alimentar, distensão abdominal e resíduo gástrico.</li> </ul>                                                                                                                                                                                         |
| <p>Panero et al. (1997)</p> <p>Estudo sobre interleucina -6 em RNT e RNPT com sepse precoce (<math>\leq 48\text{h}</math> de vida) e tardia (<math>&gt; 48\text{h}</math> de vida)</p>            | <p>Três ou mais das seguintes categorias de sinais:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Apnéia, taquipnéia, cianose;</li> <li>➤ Bradicardia, taquicardia;</li> <li>➤ Hipotonia ou convulsões;</li> <li>➤ Alteração de perfusão ou hipotensão arterial;</li> <li>➤ Irritabilidade ou letargia.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <p>Silveira; Procianoy (1999)</p> <p>Estudaram interleucina -6, fator de necrose tumoral-<math>\alpha</math> e interleucina-1 <math>\beta</math> no diagnóstico de SNP que incluiu RNT e RNPT</p> | <p>Presença de três ou mais das seguintes categorias:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Fator de risco materno: febre, ruptura prolongada de membranas, parto prematuro;</li> <li>➤ Apnéia, taquipnéia, batimento de asas de nariz, retrações intercostais, cianose;</li> <li>➤ Taquicardia, bradicardia, alteração de perfusão ou choque;</li> <li>➤ Irritabilidade ou letargia;</li> <li>➤ Hipotonia ou convulsões;</li> <li>➤ Distensão abdominal, vômitos, diarreia, intolerância alimentar, resíduo gástrico ou hepatomegalia;</li> <li>➤ Instabilidade térmica;</li> <li>➤ Icterícia idiopática;</li> <li>➤ Petéquias ou púrpura;</li> <li>➤ “RN não vai bem”.</li> </ul> |

Quadro 2 - Definições de sepse neonatal na ausência de hemocultura positiva, segundo diferentes estudos (continua).

|                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Singh et al. (2003)</p> <p>Elaboraram escore para sepse neonatal tardia</p> | <p>Presença de sinais clínicos de sepse se dois testes de triagem mostrassem anormalidades:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Velocidade de hemossedimentação (VHS) <math>\geq 14</math> mm;</li><li>➤ Índice neutrofílico <math>\geq 0,2</math>;</li><li>➤ PCR <math>\geq 5\mu\text{g} / \text{dl}</math>;</li><li>➤ Neutrofilia para idade ;</li></ul> <p>➤ OU: sinais clínicos de sepse e Raio-x de tórax sugestivo de pneumonia.</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Quadro 2 - Definições de sepse neonatal na ausência de hemocultura positiva, segundo diferentes estudos (continuação).

Portanto, na ausência de hemocultura positiva, não existe consenso no diagnóstico de sepse neonatal, especialmente em prematuros, e, segundo Escobar (2005), não existe concordância universal de escore para doenças neonatais graves. Tal fato tem levado os autores a criarem suas próprias definições adaptadas ao propósito de seus estudos particulares, com tendência a não utilizar as culturas positivas como ponto crítico de “padrão ouro” (CHIESA et al., 2004).

Silveira e Procianoy (2004) comentaram a tentativa de sistematizar os critérios para o diagnóstico de sepse neonatal precoce, na ausência de cultura positiva (sepse clínica), conforme quadro a seguir.

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Silveira;<br/>Procianoy (2004)</p> | <p>Presença de três ou mais das seguintes categorias:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Instabilidade térmica: temperatura axilar &lt; 36,5°C ou &gt; 37,5°C;</li> <li>➤ Apnéia, taquipnéia, bradipnéia, gemência, batimento de asas de nariz, retrações esternais e subcostais, cianose;</li> <li>➤ Palidez cutânea, pele fria e sudoréica, hipotensão arterial (PAM &lt; 30 mm Hg) e tempo de enchimento capilar &gt; 3 segundos;</li> <li>➤ Irritabilidade ou/e letargia;</li> <li>➤ Hipotonia ou/e convulsões;</li> <li>➤ Distensão abdominal, vômitos, resíduo gástrico e dificuldade de aceitação alimentar;</li> <li>➤ Icterícia idiopática;</li> <li>➤ Sinais de sangramento sugestivo de coagulação intravascular disseminada (CIVD);</li> <li>➤ RN não vai bem;</li> </ul> <p>OU Duas categorias associadas a um ou mais fatores de risco materno:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Febre materna;</li> <li>➤ Infecção do trato urinário (ITU) atual suspeita ou confirmada e não resolvida até o início do trabalho de parto;</li> <li>➤ Infecções do trato genital, como corioamnionite, líquido amniótico fétido ou purulento, corrimento vaginal, herpes genital, papiloma vírus e hipertonia uterina;</li> <li>➤ RUPREMA &gt; 18h.</li> </ul> |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Quadro 3 - Sepse neonatal precoce na ausência de hemocultura positiva.

O critério acima descrito não pode ser utilizado como escore, pois as variáveis não são pontuadas, além de não ser específico para RNPT com baixo peso ao nascer, apresenta grande número de variáveis reunidas em várias categorias, inclusive variáveis maternas, o que dificulta a memorização das mesmas.

Outra definição existente em infecção neonatal é a de Infecção Primária da Corrente Sanguínea (IPCS), que utiliza sinais e sintomas que podem estar relacionados a etiologias não-infecciosas, associados a dados laboratoriais (RICHTMANN, 2005; CALIL, 2006).

De acordo com *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), todas as infecções no período neonatal são consideradas infecções hospitalares, com exceção das transmitidas por via transplacentária. Existem divergências com relação à classificação dessas infecções sendo consideradas precoces as que ocorrem até 48h, enquanto alguns serviços consideram precoces as infecções que se manifestam até 72h de vida. Profissionais que atuam na área de controle de infecção hospitalar adaptaram as definições de infecção dos critérios do CDC para o período neonatal, uma vez que esses critérios são para crianças com menos de 12 meses, não diferenciando o período neonatal (CALIL et al., 2006).

Mais recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008) disponibilizou os critérios nacionais sobre infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) em neonatologia, que afetam mais de 30% dos neonatos. As IRAS foram consideradas precoces, com provável origem materna quando se manifestam nas primeiras 48h de vida e estão relacionadas com fator de risco materno para infecção (RUPREMA > 18h, cerclagem, trabalho de parto em gestação menor que 35 semanas, ITU materna sem tratamento ou em tratamento a menos de 72h do parto, febre materna nas últimas 48h, corioamnionite).

O quadro a seguir descreve as mudanças na definição de IPCS sem confirmação microbiológica (sepse clínica) e da atual IRAS em neonatologia.

|                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Richtmann (2005)</p> <p>Pacientes ≤ 12 meses de idade</p>                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Apresente pelo menos um dos seguintes sinais sem causa reconhecida: febre (temperatura axilar &gt;37,0°C) ou hipotermia (temperatura axilar &lt; 36,0°C), apnéia ou bradicardia e todos abaixo:</li> <li>➤ Hemocultura não realizada ou negativa;</li> <li>➤ Inexistência de infecção em outro sítio;</li> <li>➤ Tratamento para sepse instituído pelo médico.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                |
| <p>Calil et al. (2006)</p> <p>Definições adaptadas para período neonatal</p>                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pelo menos um dos seguintes sinais sem outra causa reconhecida: febre (temperatura axilar &gt;37,5°C) ou hipotermia (temperatura axilar &lt; 36,0° C), apnéia, bradicardia ou sinais de choque; e os seguintes critérios:</li> <li>➤ Hemograma com três parâmetros alterados (Rodwell et al. 1988);</li> <li>➤ Proteína C reativa em quantitativa elevada;</li> <li>➤ Hemocultura não realizada ou negativa;</li> <li>➤ Não evidência de infecção em outro sítio;</li> <li>➤ Instituição de terapia antimicrobiana para sepse pelo médico.</li> </ul>                                    |
| <p>ANVISA (2008)</p> <p>Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) em neonatologia</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas sem outra causa reconhecida: instabilidade térmica, bradicardia, apnéia, intolerância alimentar, piora do desconforto respiratório, intolerância à glicose, instabilidade hemodinâmica, hipoatividade / letargia. E todos os seguintes critérios:</li> <li>➤ Hemograma com ≥ 3 parâmetros alterados;</li> <li>➤ Proteína C Reativa quantitativa alterada;</li> <li>➤ Hemocultura não realizada ou negativa;</li> <li>➤ Ausência de evidência de infecção em outro sítio;</li> <li>➤ Terapia instituída pelo médico assistente.</li> </ul> |

Quadro 4 – Infecção Primária da Corrente Sanguínea e Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde sem confirmação microbiológica.

Mesmo a atual proposta da ANVISA (2008) para definir infecção precoce em neonatologia não considera especificamente o RNPT de baixo peso ao nascer. Além disso,

utiliza dados laboratoriais de difícil interpretação em RNPT com complicações não-infecciosas próprias da prematuridade, como hemograma e PCR. Esse último validado para diagnóstico de infecção apenas com dosagem por método quantitativo como a nefelometria, nem sempre disponível nos serviços que prestam atendimento a RN. Segundo tal proposta, recomenda-se, na suspeita de sepse precoce com relação à coleta de sangue para cultura, obter preferencialmente duas amostras, com método de anti-sepsia validado pela Comissão de Infecção Hospitalar e volume mínimo de um mililitro por amostra. Deve-se colher a hemocultura antes do início da antibioticoterapia ou se já em uso de antibióticos, no vale da droga, ou seja, antes da próxima dose.

O quadro a seguir descreve as mudanças na definição de IPCS e IRAS com confirmação microbiológica.

|                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Calil et al. (2006)</p> <p>Infecção Primária da</p> <p>Corrente Sanguínea</p> <p>(IPCS)</p> | <p>Critério 1: hemocultura positiva por germes não contaminantes da pele, em pelo menos uma ou mais amostras e inexistência de relação entre o microrganismo e infecção em outro sítio;</p> <p>Critério 2: ocorrência de pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas: febre (T axilar &gt; 37,5°C), hipotermia (T axilar &lt; 36,0°C), apnéia ou bradicardia, sem relação com outro local de infecção, exceto vascular e pelo menos um dos seguintes:</p> <p>a) Germes contaminantes comuns da pele (difteróides, <i>Propionibacterium spp</i>, <i>Bacillus spp</i>, <i>Staphylococcus coagulase-negativo</i> ou micrococos) cultivados em duas ou mais hemoculturas, colhidas em ocasiões diferentes;</p> <p>b) Germes contaminantes comuns da pele (difteróides, <i>Propionibacterium spp</i>, <i>Bacillus spp</i>, <i>Staphylococcus coagulase-negativo</i> ou micrococos) cultivados em uma hemocultura de paciente portador de cateter intravascular, e terapia antimicrobiana adequada instituída pelo médico;</p> <p>c) Pesquisa positiva de antígenos no sangue (<i>H. influenzae</i>, <i>S. pneumoniae</i>, <i>Neisseria meningitidis</i> ou <i>Streptococcus do grupo B</i>).</p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Quadro 5 - Infecção Primária da Corrente Sanguínea e Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde com confirmação microbiológica (continua)

|                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>ANVISA (2008)</p> <p>Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) em neonatologia</p> | <p>Critério 1: uma ou mais hemoculturas positivas por microrganismos não-contaminantes da pele e que o mesmo não esteja relacionado à infecção em outro sítio;</p> <p>Critério 2: pelo menos um dos seguintes sinais e sintomas sem outra causa não infecciosa reconhecida e sem relação com infecção em outro local: instabilidade térmica, bradicardia, apnéia, intolerância alimentar, piora do desconforto respiratório, intolerância à glicose, instabilidade hemodinâmica, hipoatividade/letargia. E pelo menos um dos seguintes:</p> <p>a) Microrganismos contaminantes comuns da pele (<i>difteróides</i>, <i>Propionebacterium spp</i>, <i>Bacillus spp</i>, <i>Staphylococcus coagulase-negativo</i> ou micrococos) cultivados em pelo menos duas hemoculturas colhidas em dois locais diferentes, com intervalo máximo de 48h entre as coletas;</p> <p>b) Estafilococo coagulase negativo cultivado em pelo menos uma hemocultura periférica de paciente com cateter vascular central.</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Quadro 5 - Infecção Primária da Corrente Sanguínea e Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde com confirmação microbiológica (continuação).

## 2.4 Classificação da sepse neonatal

A sepse neonatal é dividida, com relação ao tempo de início dos sintomas, em precoce e tardia, com diferenças quanto à população de risco, aos agentes etiológicos e ao prognóstico. Pesquisas utilizaram diferentes períodos para definir sepse neonatal precoce: até 48h de vida (PANERO et al., 1997), até quatro dias de vida (RUGOLO, 2000; KLEIN, 2001; HERMANN, 2003; MIURA, 2004; MUSSI-PINHATA et al., 2004; PROCIANOY; SILVEIRA, 2004;) e até sete dias de vida (PHILIP; HEWITT, 1980; MARTIUS, et al., 1999). A definição atual mais aceita pela literatura para SNP é de que ocorre até 72h de vida (STOLL et al., 1996; KRUEGER et al., 2001; STOLL et al., 2002; JIANG et al., 2004; GERDES, 2004).

## 2.5 Estudos sobre testes para diagnóstico de infecção neonatal

Philip e Hewitt (1980) desenvolveram escore de infecção em 376 neonatos suspeitos de sepse que foram avaliados na primeira semana de vida, baseado em achados laboratoriais que incluem: micro velocidade de hemossedimentação, razão neutrófilos imaturos / totais (I / T), contagem de leucócitos, PCR e haptoglobulina. Esse escore laboratorial utilizou, para determinar o estado de infecção de maneira retrospectiva, o resultado de culturas positivas de sangue e de LCR.

Töllner (1982) estudou dados clínicos e hematológicos de 83 neonatos tratados com sepse, com peso entre 794 e 4300g e idade gestacional entre 28 e 43 semanas com a finalidade de propor escore para sepse. A avaliação foi feita em três momentos: antes de adoecer (A), no início da apresentação dos sinais e sintomas de sepse (B) e no “pico” da doença algumas vezes com choque séptico (C). A mudança na incidência dos achados clínicos e hematológicos nas três fases de avaliação foi testada através de teste estatístico de qui-quadrado e usadas no desenvolvimento de escore. O diagnóstico de sepse foi feito com base em dados clínicos, hematológicos e hemocultura. Os dados clínicos e hematológicos usados no escore foram: cor da pele, perfusão capilar, hipotonia muscular, bradicardia, apnéia, hepatomegalia, sintomas gastrointestinais (resíduo gástrico, vômitos, distensão abdominal e diarreia), acidose metabólica, leucocitose ou leucopenia, aumento de neutrófilos imaturos, trombocitopenia. O grupo controle foi composto de prematuros e neonatos a termo sem sérias doenças e estudados na primeira semana de vida. Essa pesquisa envolveu RNPT extremo e RNT, e incluiu RN com grande variação no peso ao nascer. O escore elaborado possui variáveis clínicas e laboratoriais, cada uma com pontuação variando de zero até quatro, de acordo com sua intensidade de alteração, o que torna difícil sua aplicabilidade.

Rodwell et al. (1988) realizaram avaliações hematológicas em 287 RN com fatores de risco ou suspeita clínica de sepse e desenvolveram um escore hematológico que considera um ponto para cada uma das seguintes características:

- leucopenia ou leucocitose ( $\leq 5000 / \text{mm}^3$  ou  $\geq 25000 / \text{mm}^3$ ,  $30000 / \text{mm}^3$  e  $21000 / \text{mm}^3$  ao nascimento, 12-24h e do 2º dia de vida em diante, respectivamente);
- neutrofilia ou neutropenia;
- elevação de neutrófilos imaturos;
- índice neutrofílico aumentado (imaturos / totais)  $\geq 0,2$ ;

- razão entre neutrófilos imaturos e segmentados  $\geq 0,3$ ;
- alterações degenerativas nos neutrófilos com vacuolização e granulação tóxica;
- plaquetopenia ( $\leq 150.000/\text{mm}^3$ ).

A utilização desse escore requer cuidado na interpretação dos dados referentes a leucometria e elevação de neutrófilos de acordo com a idade em dias do RN, além da coleta de mais de uma amostra de sangue para repetição do hemograma na avaliação seriada do paciente.

Martius et al. (1999) realizaram estudo retrospectivo para analisar fatores de risco associados a sepse neonatal precoce, em 343 prematuros com menos de 35 semanas de gestação. Sepse provável foi definida pela presença de pelo menos três de oito sintomas de reação inflamatória sistêmica e pelo menos dois parâmetros laboratoriais positivos para infecção. Os sinais clínicos de sepse foram derivados do escore Töllner (1982). Os parâmetros laboratoriais indicativos de infecção incluíram: (1) PCR  $> 1 \text{ mg / dl}$ , (2) neutropenia de acordo com os critérios de Manroe et al. (1979) ou (3) razão de neutrófilos imaturos / totais  $> 0,20$  dentro de 72h após nascimento. O diagnóstico de sepse não requereu hemocultura positiva e os prematuros com sintomas clínicos que não preencheram os critérios para sepse provável foram definidos como clinicamente suspeitos de infecção (23%). Inicialmente foi determinado o *odds ratio* (OR) com os intervalos de confiança de 95% dos fatores de risco associados à sepse neonatal, a significância estatística foi analisada através do teste exato de Fisher e, utilizando a regressão logística, foram determinadas várias associações entre fatores de risco e sepse neonatal.

Vidyasagar (2000), com o objetivo de identificar dados clínicos e laboratoriais para prever infecção nosocomial, analisou duas coortes de crianças admitidas em UTIN. Através de análise bivariada de 15 variáveis clínicas, 19 variáveis hematológicas e 11 variáveis sobre anamnese, as variáveis com alta associação com sepse nosocomial resultaram em modelo chamado NEOSEP-1. Outro modelo, o NEOSEP-2, foi desenvolvido pela adição de informação sobre utilização e cultura de cateter central. A confiança dos modelos foi avaliada através da análise de itens individuais e combinada através de curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), com a conclusão de que o valor de qualquer escore clínico está em habilitar os médicos assistentes na acurácia de prever um problema, nesse caso, o início de infecção nosocomial. Ressaltando que, embora o NEOSEP-1 e NEOSEP-2 sejam escores fáceis de usar e validados, mesmo assim, possuem limitações. Como limitação do estudo, tem-se o fato das observações terem sido restritas a apenas uma UTIN e com relativamente poucos pacientes. Portanto, a reprodutibilidade de tais escores na detecção de infecção

nosocomial, somente estudos futuros em outros serviços e com maior população poderão responder essa questão.

Estudo prospectivo foi desenvolvido com o objetivo de determinar o valor preditivo de variáveis na identificação de desfechos infecciosos em crianças febris com idade entre zero a oito semanas de vida. Crianças (n= 242) com febre foram atendidas na emergência do “*Children’s Hospital of Wisconsin*, por plantonistas com pelo menos cinco anos de experiência em emergência pediátrica. Desse total, nove crianças foram excluídas por terem recebido antibióticos antes da avaliação clínica. Foram analisadas sete variáveis clínicas (nível de atividade, nível de alerta, esforço respiratório, tônus muscular, perfusão periférica, comportamento, padrão de alimentação). Cada variável recebeu pontos de valor: 1, 3 ou 5; de acordo com o grau de comprometimento (1= sem alteração, 3= intermediário nível de comprometimento, 5= severo comprometimento). As variáveis mais significantes foram colocadas para análise discriminante para obter uma tabela de classificação de infecção. A escala denominada: *Yale Observation Scale* (YIOS) foi avaliada através de curva ROC para determinar a melhor sensibilidade em função da especificidade. O estudo demonstrou que a YIOS não possui acurácia em identificar doença grave em crianças febris com idade inferior a dois meses de vida e que, na avaliação de febre em crianças com menos de oito semanas de idade, é importante a avaliação clínica, mas que inexiste escala testada que seja específica para crianças muito jovens (BONADIO et al., 1993).

Singh et al. (2003), com o objetivo de determinar escore diagnóstico preditivo de sepse neonatal tardia, monitoraram em 80 RN admitidos em unidade neonatal na Índia a presença de pelo menos um dos 16 sinais clínicos (hipotermia, hipertermia, taquicardia, bradicardia, taquipnéia, cianose central, distensão abdominal, aumento de resíduo gástrico, apnéia, gemência, retrações torácicas, “RN que não vai bem”, recusa na alimentação, letargia, convulsão, esclerema), com início após 72h de vida, foram incluídos no estudo e investigados. Os RN foram classificados em três categorias: sepse definitiva, como isolamento da bactéria do sangue ou líquido cefalorraquidiano (LCR); sepse provável como dois parâmetros positivos no escore para sepse ou raio-x de tórax sugestivo de pneumonia e cultura de sangue ou LCR negativa; não sepse como escore para sepse negativo, raio x de tórax não-sugestivo de pneumonia e culturas estéreis. O escore resultou em sete variáveis: gemência, distensão abdominal, resíduo gástrico, taquicardia, hipertermia, retrações torácicas e letargia. Foram atribuídos pesos às variáveis, proporcionalmente, à relativa magnitude da razão de verossimilhança positiva (RV+), e os pontos de corte foram avaliados com relação a: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN),

RV+ e razão de verossimilhança negativa (RV-). A limitação desse estudo foi a não-utilização da regressão logística na análise estatística, pois, não permitiu a construção de um modelo final com as variáveis de maior poder de associação com a sepse neonatal tardia.

A existência de um teste com alto grau de suspeição, para ser realizado à beira do leito, é a meta para um reconhecimento precoce de sepse, desde que possibilite àqueles que prestam os cuidados a RN a habilidade para detectar a doença através de uma cuidadosa avaliação física e da anamnese a fim de iniciar precocemente o tratamento (CHIESA et al., 2004; SHORT, 2004).

A finalidade de um escore diagnóstico é disponibilizar dados clínicos e / ou laboratoriais que possam ser utilizados na assistência de rotina e que permitam prever determinado desfecho. Os dados existentes na literatura são escassos com relação ao emprego de técnicas multivariadas para analisar a contribuição de vários preditores para infecção neonatal precoce, também com relação aos valores de RV dos sinais que possam estimar a probabilidade de infecção neonatal (ESCOBAR, 2005).

## **2.6 Testes Diagnósticos: análise**

O objetivo dos testes diagnósticos é detectar a presença ou ausência de uma condição particular, através da estimativa da probabilidade da presença da doença (NEWMAN et al., 2003).

Há dois aspectos importantes na avaliação de teste diagnóstico: a reprodutibilidade, que é a concordância dos resultados quando o exame se repete, e a validade, que é a capacidade de determinar o verdadeiro valor do que está sendo medido, ou seja, quanto o teste é útil para diagnosticar o evento ou para prevêê-lo (DEEKS; ALTMAN, 2004).

Também é importante que os pesquisadores, buscando maximizar a sensibilidade e especificidade do teste analisado, possam modificar e analisar diferentes pontos de corte que é o ponto onde o resultado do teste muda de negativo para positivo. A prevalência da doença na população do local onde está se realizando o estudo, pode ser limitante para análise do teste. A probabilidade pré-teste (prevalência) influencia no valor preditivo do teste diagnóstico, mas não modifica sua sensibilidade nem especificidade (GREENBERG et al., 2005).

Os testes diagnósticos são usados para estimar a probabilidade de um desfecho, sendo todos falíveis. Para avaliar um teste, é necessário comparar seus resultados com o “padrão

ouro”, que é o método diagnóstico disponível como mais definitivo para determinar o estado de doença “verdadeira”. Assim, tem-se a determinação dos seguintes termos (DEEKS; ALTMAN, 2004):

|                      |          | PADRÃO<br>(POSITIVO) | OURO<br>(NEGATIVO) |
|----------------------|----------|----------------------|--------------------|
| TESTE<br>DIAGNÓSTICO | POSITIVO | Verdadeiro<br>A      | Falso<br>B         |
|                      | NEGATIVO | Falso<br>C           | Verdadeiro<br>D    |

Figura 1: Modelo da tabela 2 x 2, utilizado para interpretar os dados estatísticos de testes diagnósticos.

- Sensibilidade ( $A / A+C$ ): percentagem de pessoas com a doença que têm o teste positivo. Os testes de grande sensibilidade são úteis para excluir a presença da doença.

- Especificidade ( $D / B+D$ ): percentagem de pessoas sem a doença que têm o teste negativo. Os testes de grande especificidade são úteis para confirmar a presença da doença.

- Valor Preditivo Positivo ( $A / A+B$ ): probabilidade de ter a doença, estando o modelo positivo. Representa a percentagem de pessoas com resultado do teste positivo que têm a doença.

- Valor Preditivo Negativo ( $D / C+D$ ): probabilidade de não ter a doença, estando o modelo negativo. Representa a percentagem de pessoas com resultado do teste negativo que não têm a doença.

- Razão de Probabilidade (RP) ou RV: razão da probabilidade do resultado do teste positivo ou negativo em pacientes com a doença e sem a doença.

- RP ou RV positiva = sensibilidade / (1 – especificidade) =  $A / (A + C) / B / (B + D)$ . É a probabilidade de o teste ser positivo em uma pessoa com a doença, em relação a uma pessoa sem a doença. Quanto maior o valor da RP para um teste positivo, mais forte a associação entre o teste ser positivo e ter a doença.

- RP ou RV negativa ( $1 - \text{sensibilidade}$ ) / especificidade =  $C / (A + C) / D / (B + D)$ . É a probabilidade de o teste ser negativo para uma pessoa com a doença, em relação a uma pessoa sem a doença. Quanto menor o valor da RP para um teste negativo, mais forte a associação entre ter o teste negativo e não ter a doença.

Ao contrário dos Valores Preditivos de um teste, as RV não variam com a prevalência da doença. Um teste diagnóstico com grande RV+ aumenta a suspeita da doença em pacientes com resultado do teste positivo. Quanto maior o valor da RV+, melhor o valor diagnóstico do teste (NEWMAN et al., 2003). Arbitrariamente, um valor de RV+ maior ou igual a 10 freqüentemente é percebido como um teste de elevado valor diagnóstico. Similarmente um teste com menor valor da RV- reduz a suspeita da doença em pacientes com teste negativo. Quanto menor o valor da RV-, quanto mais próxima ela for de zero, melhor o valor diagnóstico do teste para eliminar a possibilidade da doença. Também de forma arbitrária, um valor de RV- menor ou igual a 0,1, indica teste com elevado valor diagnóstico. Uma RV de 1 não fornece nenhuma informação sobre a probabilidade da doença (GREENBERG et al., 2005).

As RV podem acarretar mudanças na probabilidade pré-teste para pós-teste com magnitudes diferentes, conforme os seguintes valores (HATANAKA; BENSEÑOR, 2005):

- **Maior que 10 ou menor que 0,1:** mudanças conclusivas da probabilidade pré-teste para pós-teste.
- **De 5 a 10 e de 0,1 0,2:** mudanças moderadas da probabilidade pré-teste para pós-teste.
- **De 2 a 5 e de 0,5 a 0,2:** mudanças pequenas, mas ainda assim importantes, na probabilidade pós-teste.
- **De 1 a 2 e de 0,5 a 1:** altera pouco a probabilidade pós-teste e de forma raramente importante.

- Acurácia ( $(A+D) / (A+B+C+D)$ ): é o termo que sumariza o valor global do teste estudado, através da proporção de todos os resultados corretos dos testes, tanto os positivos quanto os negativos. Representa a concordância entre os resultados do teste e o padrão de referência. Pode se expressar em termos de sensibilidade, especificidade, RV e área abaixo da curva ROC (BOSSUYT et al., 2003).

## 2.7 Elaboração de escore

Um escore para prever a evolução da síndrome do desconforto respiratório para doença pulmonar crônica, em RNPT, foi desenvolvido a partir de variáveis significantes na análise univariada, que foram analisadas em programa de regressão logística. Os pontos do escore foram dados de acordo com o valor do risco relativo. As variáveis que apresentaram risco relativo maior que dois receberam um ponto e as com menor valor meio ponto (ROMANGNOLI et al., 1998). A identificação das variáveis que foram incluídas no modelo de regressão logística deu-se através de revisão de banco de dados dos prontuários.

Bhering et al. (2007) estudaram 247 crianças para desenvolver um modelo preditivo para broncodisplasia pulmonar. Os principais fatores de risco foram submetidos, inicialmente, a uma análise univariada. Trinta e seis variáveis mais significativas ( $p < 0,25$ ) foram então selecionadas para regressão logística, realizada pelo método *stepwise forward*, mantendo o limiar de significância em  $p < 0,05$ . O modelo final foi composto por quatro variáveis e foi validado, em 61 RN que não participaram da amostra inicial e apresentavam características semelhantes. Os dados para identificar os fatores de risco usados para elaborar o modelo foram coletados de forma retrospectiva através de consulta direta aos prontuários dos pacientes e a banco de dados informatizado do local do estudo.

Soto et al. (2008) desenvolveram um escore clínico para o diagnóstico de tuberculose pulmonar com cultura negativa do escarro em 262 pacientes. Inicialmente, análise univariada foi realizada e todas as variáveis com valor  $p < 0,25$  foram incluídas em modelo multivariado. O modelo final foi composto por seis variáveis com valor  $p < 0,05$ , que receberam pontos de acordo com o valor do coeficiente  $\beta$  do modelo de regressão. Uma limitação do estudo foi a de incluir apenas pacientes atendidos no setor de emergência de local com alta prevalência de tuberculose.

A utilidade de um escore é auxiliar na decisão clínica com relação ao paciente, no sentido de: sendo negativo ser forte evidência da ausência da doença, e sendo positivo, sugerir o início do tratamento, enquanto resultados de exames como culturas estão em andamento.

## 2.8 Estudos de Validação

As pesquisas clínicas envolvendo testes diagnósticos são feitas em diferentes fases nas quais se avaliam o real valor diagnóstico de um teste clínico ou laboratorial, com questões específicas a cada fase do estudo. As pesquisas sobre testes diagnósticos são divididas em quatro fases que deverão responder as seguintes perguntas (SACKETT; HAYNES, 2002):

FASE I: O resultado do teste em doentes difere do resultado em pessoas sem a doença? Avalia o quanto o teste diferencia os pacientes com e sem a doença em estudo. É realizada em grupo de indivíduos conhecidamente doentes e não-doentes.

FASE II: Os pacientes com certos resultados do teste têm maior chance de ter a doença do que pacientes com outros resultados, ou seja, a chance de ter a doença é maior em pacientes com resultados positivos do que em pacientes com outros resultados?

FASE III: O resultado do teste distingue pacientes com e sem a doença entre aqueles que seriam suspeitos de apresentarem a mesma? Analisa utilizando a comparação com padrão de referência quanto um teste é capaz de diagnosticar a doença entre suspeitos. Os pesquisadores não têm conhecimento prévio da situação de doente ou não-doente dos participantes do estudo, podendo todos os envolvidos no início do estudo desenvolver a doença, segundo sua situação de exposto ou não ao fator de risco. Em todos, deve ser aplicado o “padrão ouro” e o método diagnóstico em estudo.

FASE IV: Os pacientes submetidos ao teste diagnóstico foram beneficiados com diagnóstico mais precoce e tiveram melhor evolução que os não-testados? Analisa quanto um teste diagnóstico é capaz de contribuir para a evolução e terapêutica do paciente.

A acurácia de um teste diagnóstico é considerada em relação ao melhor método diagnóstico disponível para detectar o estado “verdadeiro” da doença, referido como “padrão ouro” ou padrão de referência (BOSSUYT et al., 2003; FLETCHER; FLETCHER, 2006).

## 2.9 Padrão Ouro

Um dos maiores problemas em identificar infecção neonatal é que a hemocultura considerada como “padrão ouro” é reconhecida como falha na determinação final do diagnóstico da doença (GERDES, 1991; GERDES; POLIN, 1998).

Quando não há um teste único que constitua um padrão ouro para detecção da doença, os pesquisadores constroem seu próprio “padrão ouro”, como a utilização de painel de especialistas. Nesse caso, há necessidade em mostrar que os especialistas utilizados na definição do diagnóstico são, realmente, capazes de definir a doença em estudo. Para tal, idealmente dois especialistas devem avaliar todos os pacientes e ter documentada a concordância em seu diagnóstico corrigida pelo acaso, analisada através do teste estatístico Kappa (k), dessa maneira é possível avaliar a qualidade do padrão ouro utilizado (GUYATT et al., 2008).

A medida de concordância designada de Kappa obedece a um intervalo de -1 (discordância perfeita), passando pelo zero, até + 1 (concordância perfeita). Em fenômenos biológicos um Kappa acima de 0,60 é excelente (HATANAKA; BENSEÑOR, 2005).

Finamor et al. (2005) avaliaram a eficácia da consultoria em teleoftalmologia no diagnóstico das doenças infecciosas e inflamatórias oculares. Dois consultores especialistas em uveítes receberam para análise CD-ROM com imagens de fotos, do setor de Uveítes e AIDS da Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina, e formulários com dados de anamnese e exames laboratoriais, retirados dos prontuários de 87 pacientes, e responderam a questionários sobre a sugestão diagnóstica e de tratamento. Os resultados obtidos pelos dois consultores foram avaliados por um terceiro observador.

Fischer (2005) estudou a habilidade dos clínicos em diagnosticar sepse em RN e crianças criticamente enfermas. Tal artigo relata que os casos com suspeita de infecção nos quais ocorreram dúvidas no diagnóstico, três especialistas com vários anos de experiência foram solicitados para decidir entre cinco possíveis diagnósticos: sepse, sepse provável com hemoculturas negativas, infecção localizada, infecção viral ou ausência de infecção. Os três especialistas receberam os mesmos dados dos registros dos pacientes considerados relevantes ao julgamento dos casos, incluindo dados clínicos, laboratoriais e microbiológicos e mascarados pela decisão dos demais tinham sua escolha baseada na própria experiência. No caso de acreditarem em mais de uma condição presente eram solicitados a escolher a mais relevante entre as cinco hipóteses.

Desta forma, evidenciamos que não existe escore clínico para diagnóstico de sepse neonatal precoce em RNPT com baixo peso ao nascer, além da existência na literatura de estudos que utilizam especialistas para diagnosticar sepse neonatal (ESCOBAR, 1999; ESCOBAR et al., 2000; FISHER, 2005), pela dificuldade na confirmação microbiológica.

### **QUESTÃO DA PESQUISA:**

Haveria a possibilidade de elaborar e validar escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em RNPT, com baixo peso ao nascer?

### 3 OBJETIVOS

#### Geral:

- Elaborar escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer, com risco ou suspeita de infecção, admitidos no berçário e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) do Instituto Cândida Vargas (ICV), em relação ao diagnóstico da doença obtido através da concordância entre especialistas. Validar o novo escore, em relação ao diagnóstico da doença por hemocultura em amostra diferente.

#### Específicos:

- Identificar as variáveis clínicas associadas à sepse neonatal precoce, em recém-nascidos pré-termo, com baixo peso ao nascer, com risco ou suspeita de infecção, em relação à concordância do diagnóstico por especialistas;
- Elaborar escore clínico para diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo, com baixo peso ao nascer, com risco ou suspeita de infecção, a partir das variáveis mais fortemente associadas à doença nesses pacientes, em relação à concordância do diagnóstico por especialistas;
- Validar o novo escore clínico em amostra diferente de recém-nascidos pré-termo, com baixo peso ao nascer, com risco ou suspeita de infecção, em relação ao diagnóstico de sepse neonatal precoce em relação à hemocultura como padrão de referência.

## **MÉTODOS**

## **4 MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de estudo**

Trata-se de estudo prospectivo, observacional, tipo caso-controle aninhado de coorte na fase de elaborar o escore, e na segunda fase, estudo de validação diagnóstica fase III de Sackett e Haynes (2002).

### **4.2 Local e período do estudo**

Foi realizado no berçário e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN), do Instituto Cândida Vargas (ICV), no período de 03/04/2006 a 31/05/2008. Esse Instituto é centro terciário de referência para gestação de alto risco, conveniado com o Sistema Único de Saúde (SUS) e responsável pela assistência a maioria dos partos prematuros da cidade de João Pessoa - PB.

### **4.3 População do Estudo**

A população do estudo foi composta por RNPT, com idade gestacional 29 – 36,6 semanas, peso ao nascer entre 1000 e 2499g, nascidas e admitidas no berçário e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do ICV, João Pessoa, Brasil, de abril/2006 a maio/2008. Diante das controvérsias sobre a determinação da idade gestacional em recém-nascidos pré-termo e de baixo peso ao nascer, a pesquisa adotou a definição da idade gestacional pela data da última menstruação e/ou ultra-sonografia obstétrica (ALEXANDER et al., 1990; SANDERS et al., 1991; ALEXANDER et al., 1992; MORAES; REICHENLEIM, 2000). Todos possuíam pelos menos um dos seguintes riscos para infecção: RUPREMA  $\geq$  18h, corioamnionite,

infecção urinária materna não tratada, febre materna, líquido amniótico fétido; ou eram suspeitos de infecção por terem sido investigados através de leucograma e/ou hemocultura por neonatologistas do serviço (ESCOBAR, 1999). Os RNPT incluídos na pesquisa foram acompanhados prospectivamente até 72h de vida, período definido para aparecimento da sepse neonatal precoce (KAFTAN, 1998; GERDES, 2004; BHERING et al., 2007). Os critérios de exclusão foram: malformações, os investigados ou tratados como infecções congênicas do tipo toxoplasmose, citomegalovírus, rubéola, sífilis e HIV, a não realização de exames laboratoriais (ESCOBAR, 2000; BHERING et al., 2007).

#### 4.4 Variáveis do Estudo

|                                  |                                                                                                                                          |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Idade materna                    | Anos completos no momento do parto (referido pela mãe ou prontuário materno)                                                             |
| Escolaridade materna             | Anos completos de estudo no momento do parto (referido pela mãe ou prontuário materno)                                                   |
| Número consultas do pré-natal    | Número de consultas realizadas durante pré-natal (referido pela mãe ou cartão pré-natal)                                                 |
| Idade gestacional                | Calculada pela data da última menstruação e na ausência desta, por dado de ultra-sonografia obstétrica                                   |
| Peso ao nascer                   | Aferido em gramas em balança digital                                                                                                     |
| Sexo                             | Aspecto da genitália externa                                                                                                             |
| Tipo parto                       | Vaginal ou cesáreo                                                                                                                       |
| Instabilidade térmica            | Temperatura axilar < 36,0°C ou > 37,5°C                                                                                                  |
| Taquipnéia                       | Frequência respiratória > 60 ipm / min                                                                                                   |
| Retração subcostal e/ou esternal | Acentuada retração em nível do esterno ou da parede torácica inferior, em qualquer tempo respiratório com o RN em repouso                |
| Gemência                         | Som ouvido na fase da expiração, com ou sem o uso de estetoscópio                                                                        |
| Apnéia                           | Pausa respiratória com duração superior a 20 segundos ou menor duração associada à bradicardia (frequência cardíaca <100 bpm) ou cianose |
| Cianose central                  | Coloração azulada de pele e mucosas, incluindo língua                                                                                    |
| Batimento de asas nasais         | Movimento de abertura e fechamento das fossas nasais em cada respiração                                                                  |

Quadro 6 – Definições das variáveis da pesquisa (GERDES, 2004; SILVEIRA; PROCIANOY, 2004; KLEIN, 2001) (continua)

|                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Distensão abdominal                         | Observada durante inspeção ou palpação em não uso de CPAP nasal                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Resíduo gástrico                            | Volume aspirado por sonda gástrica antes da dieta, que some mais que 20% do volume a ser oferecido em 24h, ou aspecto biliar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Hepatomegalia                               | Palpável a mais de 2 cm do rebordo costal direito com RN em repouso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Esplenomegalia                              | Palpável a mais de 1 cm do rebordo costal esquerdo com RN em repouso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Icterícia idiopática                        | Colestase (bilirrubina direta > 2mg/dl)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Vômitos                                     | Expulsão do conteúdo gástrico pela boca de forma violenta                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Palidez                                     | Cor branca em pele, mais fácil de visualizar em região plantar ou / e palmar e nos lábios                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Alteração de perfusão                       | Pele fria ou úmida ou tempo de enchimento capilar > 3 segundos (verificado através de dígito-pressão em Esterno) em caso de necessidade de uso de expansor de volume ou/e vasopressor                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Hipotonia                                   | Todos os segmentos do corpo da criança estão em completo contato com o leito, e ao levantar o tronco do RN pelos braços, a cabeça do mesmo fica totalmente defletida                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Convulsão                                   | Focal (contrações rítmicas de grupos musculares, sobretudo, membros e face), clônica (contrações rítmicas de vários musculares simultaneamente), tônica (postura rígida dos membros e tronco, podendo ser acompanhada por desvio fixo dos olhos), mioclônica (espasmos breves e focais ou generalizados dos membros ou corpo, que tendem a envolver os grupos musculares distais), sutil (movimentos de mastigação, salivação excessiva, piscar, pedalar, alterações da frequência respiratória incluindo apnéia, nistagmo e alterações da cor da pele) |
| Letargia                                    | Ausência de reação ao ser manuseado durante o exame físico ou procedimentos como punção venosa ou realização do asseio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Irritabilidade                              | Choro persistente na ausência de manipulação                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Coagulação intravascular disseminada (CIVD) | Sangramento em locais de punção venosa, hematúria, petéquias não-relacionadas à tocotraumatismo, hepatoesplenomegalia                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| RN que não vai bem                          | Mudança na cor da pele para reticulada ou acinzentada, bradicardia, aumento do número de apnéias, necessidade de reanimação com ventilação com pressão positiva, aumento dos parâmetros de ventilação ou da necessidade de oxigênio após uma evolução inicialmente satisfatória e morte                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Esclerema                                   | Endurecimento da pele que não permite seu pinçamento, melhor detectada em membros inferiores                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

Quadro 6 - Definições das variáveis da pesquisa (GERDES, 2004; SILVEIRA; PROCIANOY, 2004; KLEIN, 2001) (continuação)

#### **4.5 Definição de caso de sepse neonatal precoce do estudo**

➤ 1ª FASE (elaborar o escore):

SNP foi definida através da concordância do diagnóstico por três especialistas. A escolha por especialistas para definir SNP deu-se em virtude da ausência de consenso para o diagnóstico da doença, em RNPT, na ausência de hemocultura positiva. Além de relatos na literatura sobre a composição de painel de especialistas, que através de dados clínicos que lhe são fornecidos, e com base em sua experiência pessoal, definem através da concordância entre seus membros os casos suspeitos de determinada doença (ESCOBAR, 1999; ESCOBAR, 2000; KNOTTERUS; MURIS, 2002; FISHER, 2005). A fim de, garantir uma classificação consistente da doença pelo painel de especialistas é importante um treinamento de seus componentes em projeto piloto, além de documentar a concordância entre os mesmos (KNOTTERUS; MURIS, 2002; GUYATT et al., 2008). Tal orientação foi cumprida nessa pesquisa. Os formulários com os dados dos RNPT participantes do estudo (Apêndice H) foram xerocados e entregues a dois especialistas. Eles analisaram os formulários durante o período de coleta dos dados e definiram os casos a partir das informações fornecidas, como sepse ou não, de forma independente e mascarada. O diagnóstico e a decisão dos diaristas e plantonistas com relação ao uso de antibióticos nos RNPT não foram informados aos especialistas, para não induzir sua classificação. Nos casos discordantes, um terceiro especialista recebeu os formulários desses casos (Apêndice H) e os definiu. A concordância inter-observador foi avaliada através do método estatístico Kappa (KNOTTERUS; MURIS, 2002; FISHER, 2005; HATANAKA; BENSEÑOR, 2005).

➤ 2ª FASE (validar o escore):

SNP foi definida através de hemocultura positiva colhida até 72h de vida em RNPT com clínica da doença (STOLL et al., 1996).

#### 4.6 Tamanho da amostra

- 1ª FASE: elaborar o escore.

O cálculo foi realizado no Programa Epiinfo 6.0, *Statcalc calculator – Sample size @ power – case-control* (1 : 3), intervalo de confiança de 95% e *power* 0,80. Através dos dados obtidos nos RNPT acompanhados no projeto piloto, foi realizada análise univariada das variáveis descritas por Silveira e Procianoy (2004) para diagnóstico de SNP. Não foi utilizado o painel de especialistas para definir SNP nessa fase, em virtude do mesmo estar em treinamento. Foi calculado o OR e a frequência esperada de cada variável clínica presente em RNPT sem SNP. O cálculo do número de casos e controles obtido com a variável distensão abdominal, em 67 casos e 201 controles.

- 2ª FASE: validar o escore.

A estimativa do tamanho da amostra baseou-se em artigo publicado por Flahault et al. (2005), sobre o número de casos necessários em estudo de um novo teste diagnóstico, quando a prevalência da doença for abaixo de 0,50, com a certeza de que a amostra seja representativa da população. A pesquisa assumiu para o novo escore diagnóstico, um valor esperado de sensibilidade (ou especificidade) de 85%. De acordo com o referido artigo, foi necessária uma amostra com 52 RNPT com diagnóstico de sepse pelo padrão ouro, para que, se garanta um limite mínimo do intervalo de confiança de 95% da sensibilidade (ou especificidade) de 0,75. O número de controles  $n_c$  foi obtido pela seguinte expressão:

$$n_c = \text{número de casos}[(1 - \text{Prevalência}) / \text{Prevalência}].$$

A prevalência de SNP clínica da literatura varia de acordo com idade gestacional e peso ao nascer entre 10% a 47% (SINGH et al., 1994; STOLL et al., 1996; MIURA et al., 1999; RUGOLO, 2000; FERRAZ, 2000; HERMANN, 2003; MUSSI-PINHATA et al., 2004). Foi considerada uma prevalência de 15%, próxima ao menor valor da prevalência descrita na literatura. Portanto, o número de controles foi calculado em 294.

#### **4.7 Coleta dos dados**

O Projeto Piloto foi realizado com a finalidade de: padronizar o instrumento de coleta de dados da pesquisa adotado como prontuário (Apêndices B, C e D) no hospital; treinar todos os plantonistas e diaristas quanto ao correto preenchimento dos novos prontuários; elaborar e entregar a cada plantonista e diarista o manual sobre a definição das variáveis com relevância para o diagnóstico de sepse (Apêndice E); treinar os especialistas quanto aos formulários a serem analisados por eles; aperfeiçoar os formulários (Apêndice H), a partir das sugestões dos especialistas, com variáveis a serem acrescentadas a fim de facilitar a classificação dos casos; obter dados para calcular o tamanho da amostra para elaborar o escore.

A pesquisadora coletou dos prontuários padronizados (Apêndices B, C e D), todos os dados: clínicos, laboratoriais, radiológicos e microbiológicos do nascimento até 72h de vida. As crianças da amostra foram acompanhadas, diagnosticadas e tratadas pelos diaristas e plantonistas do serviço, sem interferência da pesquisadora. Por outro lado, a pesquisadora desconhecia os critérios utilizados pelos especialistas na definição dos casos, com isso, evitou-se o viés de valorizar a identificação das variáveis usadas pelos especialistas para diagnosticar sepse. Os exames: hemograma, PCR e hemocultura foram colhidos de forma padronizada (Apêndice F) dentro das primeiras 72h de vida, durante a investigação dos RNPT pelos diaristas e plantonistas. O hemograma foi realizado através de aparelho automatizado Sysmex KX21N e a PCR por suspensão de partículas em látex kit Bioclin (ponto de corte 6 mg/L). A interpretação radiológica e laudo foram realizados por radiologista. As hemoculturas foram realizadas pelo kit Hemoprov I, frasco pediátrico com nove mililitro de meio de cultura T.S.B / S.P.S / CO<sup>2</sup> e vácuo.

#### **4.8 Armazenamento e análise dos dados**

Os dados coletados dos prontuários foram colocados em formulário (Apêndice G) e armazenados com dupla entrada em banco de dados do pacote estatístico Epi Info versão 6.0.

#### **4.8.1 Análise dos dados: fase descritiva**

Realizada em programa SPSS versão 13.0, objetivou a descrição das características gerais da população estudada, com relação à presença ou não de SNP. As variáveis maternas foram: escolaridade, idade, número de consultas no pré-natal e tipo de parto. As variáveis dos RN foram: idade gestacional, peso ao nascer e sexo.

#### **4.8.2 Análise dos dados: fase analítica**

- 1ª FASE (elaborar o escore): realizada em programa SPSS versão 13.0.
- 2ª FASE (validar o escore): realizada Programa Win Episcopes 2.0 e através do nomograma pré e pós-teste (disponível em: <http://cybermango.org/cgi-bin/testcalc.pl>).

#### **4.9 Divisão da Amostra**

Foi necessária a divisão da amostra total para cumprir os objetivos da pesquisa (elaborar e validar escore). Como o padrão ouro utilizado para validar o escore foi hemocultura, os RNPT com hemoculturas positivas compuseram a amostra de validação. A possibilidade de um viés ao não ter RNPT com hemocultura positiva na amostra usada para elaborar o escore, levou à necessidade de comparar as duas amostras após a sua divisão. As 13 variáveis independentes, incluídas no modelo de regressão logística para elaborar o escore (Tabela II do artigo 1), foram analisadas comparativamente nas duas amostras, através do critério diagnóstico de sepse neonatal precoce descrito por Silveira e Procianoy (2004), aplicado a todos os RNPT das duas amostras, conforme demonstrado na seguinte tabela.

Tabela 4.1 – Comparação entre as amostras para elaborar e para validar o escore com relação às variáveis e à presença ou à ausência de sepse neonatal precoce, em recém-nascidos pré-termo, com baixo peso ao nascer – ICV – João Pessoa – abril - 2006 a maio - 2008

| Variável                     |     | Amostra elaborar    |                      | OR             | p*    | Amostra validar      |                      | OR             | p*    |
|------------------------------|-----|---------------------|----------------------|----------------|-------|----------------------|----------------------|----------------|-------|
|                              |     | Sepse sim<br>(n=84) | Sepse não<br>(n=185) | (IC 95%)       |       | Sepse sim<br>(n=182) | Sepse não<br>(n=182) | (IC 95%)       |       |
| Instabilidade térmica        | Sim | 30                  | 10                   | 9,72           |       | 62                   | 10                   | 8,88           |       |
|                              | Não | 54                  | 175                  | (4,47- 21,16)  | 0,001 | 120                  | 172                  | (4,38 – 18,03) | 0,001 |
| Gemência                     | Sim | 48                  | 52                   | 3,41           | 0,001 | 113                  | 73                   | 2,44           | 0,001 |
|                              | Não | 36                  | 133                  | (1,99– 5,84)   |       | 69                   | 109                  | (1,61 – 3,73)  |       |
| Batimento Aletos nasais      | Sim | 36                  | 37                   | 3,00           | 0,001 | 110                  | 55                   | 3,29           | 0,001 |
|                              | Não | 48                  | 148                  | (1,71 – 5,27)  |       | 72                   | 127                  | (2,29 – 5,44)  |       |
| Retrações torácicas          | Sim | 70                  | 51                   | 13,14          | 0,001 | 152                  | 83                   | 6,04           | 0,001 |
|                              | Não | 14                  | 134                  | (6,80 –25,37)  |       | 30                   | 99                   | (3,71 – 9,85)  |       |
| Frequência respiratória > 60 | Sim | 33                  | 26                   | 3,95           | 0,001 | 48                   | 29                   | 1,89           | 0,020 |
|                              | Não | 51                  | 159                  | (2,17 – 7,23)  |       | 134                  | 153                  | (1,13 – 3,17)  |       |
| Apnéia                       | Sim | 39                  | 08                   | 19,17          | 0,001 | 63                   | 19                   | 4,54           | 0,001 |
|                              | Não | 45                  | 177                  | (8,38- 43,89)  |       | 119                  | 163                  | (2,58 –7,99)   |       |
| Cianose Central              | Sim | 35                  | 11                   | 11,29          | 0,001 | 83                   | 24                   | 5,52           | 0,001 |
|                              | Não | 49                  | 174                  | (5,35- 23,87)  |       | 99                   | 158                  | (3,28 – 9,27)  |       |
| Palidez                      | Sim | 27                  | 06                   | 14,13          | 0,001 | 84                   | 14                   | 10,29          | 0,001 |
|                              | Não | 57                  | 179                  | (5,56 – 35,94) |       | 98                   | 168                  | (5,54– 19,08)  |       |
| Alteração de Perfusão        | Sim | 44                  | 02                   | 100,65         | 0,001 | 86                   | 04                   | 39,86          | 0,001 |
|                              | Não | 40                  | 183                  | (23,43–432,42) |       | 96                   | 178                  | (14,19-111,97) |       |
| Resíduo Gástrico             | Sim | 35                  | 12                   | 10,30          | 0,001 | 86                   | 18                   | 8,16           | 0,001 |
|                              | Não | 49                  | 173                  | (4,97 – 21,33) |       | 96                   | 164                  | (4,63 – 14,39) |       |
| Distensão abdominal          | Sim | 21                  | 13                   | 4,41           | 0,001 | 28                   | 07                   | 4,54           | 0,001 |
|                              | Não | 63                  | 172                  | (2,08 – 9,33)  |       | 154                  | 175                  | (1,93 – 10,70) |       |
| Hipotonia                    | Sim | 26                  | 04                   | 20,28          | 0,001 | 44                   | 03                   | 19,02          | 0,001 |
|                              | Não | 58                  | 181                  | (6,80- 60,54)  |       | 138                  | 179                  | (5,78 – 62,56) |       |
| Letargia                     | Sim | 19                  | 01                   | 53,78          | 0,001 | 40                   | 00                   | -              | -     |
|                              | Não | 65                  | 184                  | (7,06- 409,79) |       | 142                  | 182                  | -              |       |

p \* = teste exato de Fisher

- Ao analisarmos a comparação entre as amostras, concluímos que as duas amostras são homogêneas com relação às 13 variáveis clínicas presentes em crianças com e sem SNP. Com isso, ao separar as amostras não foi introduzido viés, pois, as variáveis mostram-se significantes estatisticamente em ambas as amostras.

A pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética para Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley (Anexo A) e obtido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) por parte dos responsáveis pelos pacientes.

#### 4.10 Fluxograma da Pesquisa

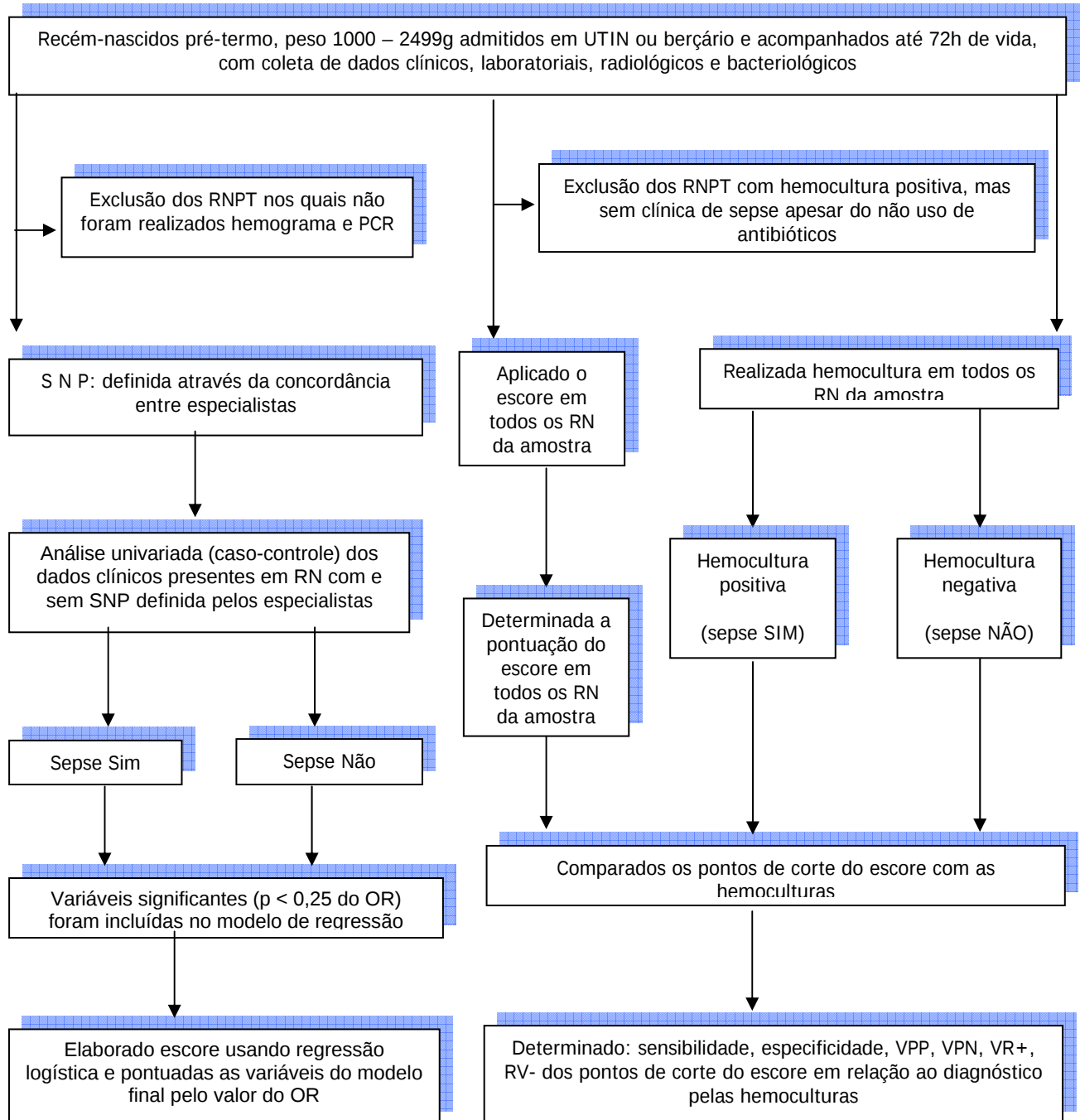


Figura 2: Algoritmo da pesquisa

**ARTIGO I – ELABORAÇÃO DE ESCORE CLÍNICO PARA O DIAGNÓSTICO DE  
SEPSE NEONATAL PRECOCE EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO COM  
BAIXO PESO AO NASCER**

(Artigo submetido à revista Indian Pediatrics)



Submissão à revista Indian Pediatrics na categoria: Pesquisa

**Título: Elaboração de escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer**

**Título resumido: Sepse neonatal precoce: escore clínico**

Liane C. Viana <sup>1</sup>

Vera Magalhães <sup>2</sup>

Ricardo A.A. Ximenes <sup>3</sup>

Constantino Giovanni C. Braga <sup>4</sup>

**Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco**

Autor para correspondência:

Liane Carvalho Viana

Rua Antônio Lustosa Cabral nº 15, aptº 604, Cabo Branco, João Pessoa – PB, Brasil, CEP 58045-020.

e-mail: [lianecviana@hotmail.com](mailto:lianecviana@hotmail.com)

Fax: (55) 8332167308

Fone: (55) 8332264498

Número de palavras do resumo: 250 palavras

Número de palavras do texto: 2400 palavras

---

<sup>1</sup> Doutor. Professor, Departamento de Pediatria e Genética da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brasil UFPB), João Pessoa, Brasil.

<sup>2</sup> Doutor. Professor Titular, Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil.

<sup>3</sup> Doutor. Professor, Pesquisador CNPq, Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil.

<sup>4</sup> Doutor. Professor, Departamento de Pediatria e Genética da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brasil.

## RESUMO

**Objetivo:** Elaborar escore clínico para diagnóstico de sepse neonatal precoce (SNP) em recém-nascidos pré-termo (RNPT) com baixo peso ao nascer (BPN). **Desenho do estudo:** caso-controle. **Local:** Berçário e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN). **Métodos:** RNPT, pesando 1000–2499g, admitidos no berçário e UTIN do Instituto Cândida Vargas, nordeste do Brasil, durante Abril-2006 a Maio-2008, com risco ou suspeita de infecção, foram acompanhados prospectivamente até 72h de vida. O odds ratio (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC95%) de cada sinal clínico foram calculados, os que apresentaram valor p do teste exato de Fisher  $< 0.25$ , foram incluídos em modelo de regressão logística para desenvolver o escore. As variáveis clínicas que compuseram o modelo final foram as que apresentaram valor  $p < 0,05$ . A pontuação do escore deu-se pelo valor do OR e seus respectivos IC95%. **Resultados:** A amostra foi composta por 284 RNPT, foram excluídos 15 por falta de exames laboratoriais. Sessenta e sete (23.6%) tiveram o diagnóstico de SNP através da concordância entre especialistas. Treze variáveis clínicas foram analisadas em modelo de regressão logística. O resultado foi escore com cinco variáveis pontuadas da seguinte maneira: apnéia, alteração de perfusão e resíduo gástrico, com valor mínimo de IC95% do OR maior que quatro receberam dois pontos; hipotonia e instabilidade térmica, com menor valor, receberam um ponto. **Conclusões:** Foi elaborado escore clínico para o diagnóstico de SNP em RNPT com BPN. O mesmo possui fácil aplicabilidade, não é invasivo e não possui custos.

**Descritores:** Diagnóstico, sepse, recém-nascido pré-termo, baixo peso ao nascer, escore.

## Introdução

O diagnóstico de sepse neonatal precoce (SNP) em recém-nascidos pré-termo (RNPT) com baixo peso ao nascer (BPN) representa um desafio, porque a clínica inicial pode ser confundida com a da própria prematuridade e o retardo no diagnóstico aumenta a possibilidade de sequelas.<sup>1,2</sup>

Em países desenvolvidos, estudos sobre acurácia do exame físico em detectar infecção bacteriana grave, em crianças menores que três meses de vida, apresentam resultados

conflitantes. Estes estudos são limitados devido o pequeno número de pacientes com a doença que podem ser envolvidos, tornando difícil o uso da regressão logística para detectar a relação entre variáveis clínicas e o diagnóstico.<sup>3</sup>

A regressão logística determina o grau de associação entre variáveis preditivas e o desfecho.<sup>4,5-9</sup> Existem poucos dados sobre modelos multivariados, valores preditivos e razão de verossimilhança (RV) de sinais clínicos de sepse em recém-nascidos e não há escore para diagnóstico de SNP em RNPT com BPN.<sup>10</sup> Na avaliação da utilidade clínica de testes diagnósticos para infecção bacteriana neonatal, recomenda-se a análise da razão de verossimilhança (RV).<sup>11,12</sup>

Diante da dificuldade de diagnóstico bacteriológico, o uso de painel de especialistas valorizando a experiência clínica, tem sido usado na definição de casos suspeitos de infecção, com cultura negativa.<sup>4,13,14</sup>

O objetivo deste estudo foi elaborar escore clínico para o diagnóstico de SNP em RNPT com BPN, utilizando a regressão logística como instrumento estatístico e com a definição da doença através da concordância entre especialistas. O escore pode ajudar na decisão sobre antibioticoterapia, enquanto a investigação diagnóstica prossegue.

### **População e período**

A população do estudo foi composta por RNPT com idade gestacional (IG), entre 29–36,6 semanas, definida pela data da última menstruação e/ou ultra-sonografia obstétrica, peso ao nascer 1000-2499g, admitidas no berçário e/ou Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) do Instituto Cândida Vargas (ICV), de abril/2006 a maio/2008. Todos possuíam pelo menos um dos seguintes riscos para infecção: ruptura prolongada de membranas  $\geq 18$ h, corioamnionite, febre ou infecção urinária materna não tratada, líquido amniótico fétido;<sup>15</sup> ou eram suspeitos de infecção e foram investigados através de leucograma e/ou hemocultura por neonatologistas do serviço.<sup>13</sup> Os RNPT incluídos na pesquisa foram acompanhados prospectivamente até 72h de vida, período definido para aparecimento da SNP.<sup>1,2,5</sup> Foram critérios de exclusão: malformações, os investigados ou tratados como infecções congênitas do tipo toxoplasmose, citomegalovírus, rubéola, sífilis e HIV, não-realização de exames laboratoriais.<sup>4,5</sup>

## **Protocolo Clínico**

Projeto Piloto foi realizado para padronizar o instrumento de coleta de dados da pesquisa adotado como prontuário no hospital; treinar e entregar, a cada plantonista e diarista, manual sobre a definição das variáveis com relevância para o diagnóstico de sepse; treinar os especialistas quanto aos formulários a serem analisados por eles; aperfeiçoar os formulários a partir das sugestões dos especialistas, a fim de facilitar a classificação dos casos; obter dados para calcular o tamanho da amostra.

A pesquisadora coletou dos prontuários padronizados dos RNPT dados clínicos, laboratoriais, radiológicos e microbiológicos do nascimento até 72h de vida. Esses dados foram colocados nos formulários entregues aos especialistas.

Os sinais clínicos investigados a cada 24h foram frequência respiratória  $> 60/\text{min}$ , graves retrações torácicas, gemência, apnéia, cianose central, batimento de asa do nariz; instabilidade térmica (temperatura axilar  $< 36^{\circ}\text{C}$  ou  $> 37,5^{\circ}\text{C}$ ); distensão abdominal; resíduo gástrico (volume aspirado antes das dietas  $> 20\%$  do volume total a ser oferecido em 24h); hepatomegalia; icterícia idiopática; alteração de perfusão (palidez, pele fria ou úmida, tempo de enchimento capilar  $> 3\text{s}$ , uso de reposição volumétrica ou vasopressor); hipotonia; convulsão; letargia; irritabilidade; coagulação intravascular disseminada; “RN que não vai bem” (mudança na cor da pele para moteada; bradicardia; aumento do número de apnéias; necessidade de reanimação com ventilação com pressão positiva ou de aumento na concentração de oxigênio após ter apresentado melhora clínica); esclerema.<sup>15,16</sup>

Os exames: hemograma, proteína C reativa (PCR) e hemocultura foram coletados de forma padronizada, dentro das primeiras 72h de vida, durante a investigação dos RNPT pelos diaristas e plantonistas. O hemograma realizado através de aparelho automatizado Sysmex KX21N e a PCR por suspensão de partículas em látex kit Bioclin (ponto de corte 6 mg/L). A interpretação radiológica foi realizada por radiologista. As hemoculturas foram realizadas pelo kit Hemoprov I, frasco pediátrico com nove mililitro de meio de cultura T.S.B / S.P.S /  $\text{CO}_2$  e vácuo.

## **Definição de sepse da pesquisa**

SNP foi definida através da concordância entre especialistas. A pesquisa escolheu esse padrão de referência para o diagnóstico clínico da doença, em virtude da inexistência de consenso para o diagnóstico da doença em RNPT, na ausência de hemocultura positiva. Além

de relatos na literatura sobre a composição de painel de especialistas, que através de dados clínicos que lhes são fornecidos, e com base em sua experiência pessoal, definem através da concordância entre seus membros os casos suspeitos de determinada doença.<sup>4,13,14,17</sup>

Os formulários com os dados dos RNPT participantes do estudo foram xerocados e entregues a dois especialistas. Eles os analisaram e definiram os casos a partir das informações fornecidas, como sepse ou não, de forma independente e mascarada. O diagnóstico e a decisão dos diaristas e plantonistas com relação ao uso de antibióticos nos RNPT não foram informados aos especialistas, para não induzir sua classificação. Nos casos discordantes, um terceiro especialista recebeu os formulários desses casos e os definiu. A concordância inter-observador foi avaliada através do Kappa.<sup>14,17,18</sup>

### **Análise estatística**

Os dados coletados foram armazenados com dupla entrada em banco de dados do Epi Info versão 6.0 e analisados em programa SPSS versão 13.0.

### **Tamanho da amostra**

O cálculo foi realizado no Programa Epiinfo 6.0, *Statcalc calculator – Sample size @ power – case-control* (1 : 3), intervalo de confiança de 95% (IC95%) e *power* 0,80. Foi realizada análise univariada das variáveis presentes em RNPT acompanhados durante o projeto piloto, com diagnóstico de SNP descrito em Silveira e Procianoy (2004).<sup>15</sup> Foram calculados o *odds ratio* (OR) e a frequência esperada de cada variável clínica presente em RNPT sem SNP. O cálculo do número de casos e controles obtidos com a variável distensão abdominal foi de: 67 casos e 201 controles.

### **Desenvolvimento do escore**

Foi calculado o OR em tabela 2x2, com respectivos IC95%, das variáveis clínicas presentes nos RNPT com e sem SNP, de acordo com o diagnóstico através da concordância entre especialistas.<sup>5,6,8</sup> As variáveis com valor *p* do Teste exato de Fisher < 0,25 foram incluídas no modelo de regressão logística, método *forward stepwise likelihood ratio*.<sup>4,5-7</sup> O escore foi composto pelas variáveis que mantiveram significância estatística (*p*<0,05) em

relação à SNP.<sup>6,8</sup> Os pontos foram atribuídos segundo o valor do OR ( $\beta$  coeficiente) do modelo multivariado e de seus IC95%.<sup>6,8</sup>

O estudo foi aprovado em Comitê de Ética para Pesquisa. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado pelos responsáveis dos pacientes.

## Resultados

Foram avaliados 284 RNPT e excluídos 15 por não possuírem dados laboratoriais. Sessenta e sete RNPT (23,6%) tiveram diagnóstico de SNP pelos especialistas (Tabela I).

**TABELA I:** Características da população estudada em relação à presença ou à ausência de sepse neonatal precoce

|                                                    |       | Com sepse<br>(n=67) | Sem sepse<br>(202) | p       |
|----------------------------------------------------|-------|---------------------|--------------------|---------|
| Escolaridade materna<br>(anos completos de estudo) | Média | 6.9                 | 7.2                | 0.559 * |
|                                                    | DP ‡  | 3.5                 | 3.3                |         |
|                                                    | IC §  | 6.1 – 7.7           | 6.8 – 7.6          |         |
| Idade materna<br>(anos)                            | Média | 24.3                | 24.0               | 0.733 * |
|                                                    | DP ‡  | 6.7                 | 6.6                |         |
|                                                    | IC §  | 22.7 – 25.9         | 23.0 – 25.0        |         |
| Número de consultas pré-natal                      | Média | 4.5                 | 5.3                | 0.018 * |
|                                                    | DP ‡  | 2.0                 | 2.1                |         |
|                                                    | IC §  | 4.1 – 5.0           | 4.9 – 5.5          |         |
| Idade gestacional<br>(semanas)                     | Média | 32.5                | 34.1               | 0.001 * |
|                                                    | DP ‡  | 2.0                 | 1.5                |         |
|                                                    | IC §  | 32 – 33.2           | 33 – 34.4          |         |
| Peso ao nascer<br>(gramas)                         | Média | 1678                | 1968               | 0.001 * |
|                                                    | DP ‡  | 511                 | 449                |         |
|                                                    | IC §  | 1577 - 1799         | 1909 – 2026        |         |
| Sexo masculino: feminino                           | N     | 34 : 33             | 100:102            | 0.486 † |
| Parto cirúrgico: eutócico                          | N     | 41 : 26             | 135 : 67           | 0.243 † |

\* p Mann-Whitney, † p teste exato de Fisher, ‡ Desvio padrão, § Intervalo de confiança 95%

Com relação às características gerais da população estudada, observou-se diferença estatística no número de consultas durante pré-natal, idade gestacional e peso ao nascer, que apresentaram menor valor no grupo com SNP.

Treze variáveis clínicas foram incluídas em modelo de regressão logística (Tabela II).

**TABELA II:** Variáveis associadas à sepse neonatal precoce, incluídas no modelo de regressão logística

|                                  |     | Sepsis SIM<br>(n=67) | Sepsis NÃO<br>(n=202) | OR †<br>(IC95%) | p*    |
|----------------------------------|-----|----------------------|-----------------------|-----------------|-------|
| Instabilidade Térmica            | SIM | 25                   | 15                    | 7.42            | 0.001 |
|                                  | NÃO | 42                   | 187                   | (3.6 – 15.3)    |       |
| Gemência                         | SIM | 36                   | 64                    | 2.5             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 31                   | 138                   | (1.4 – 4.4)     |       |
| Batimento de asa do nariz        | SIM | 29                   | 44                    | 2.7             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 38                   | 158                   | (1.5 – 4.9)     |       |
| Severas retracções torácicas     | SIM | 54                   | 67                    | 8.4             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 13                   | 135                   | (4.3 – 13.4)    |       |
| Frequência respiratória > 60 ipm | SIM | 26                   | 33                    | 3.2             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 41                   | 169                   | (1.8 – 6.0)     |       |
| Apnéia                           | SIM | 35                   | 12                    | 17.3            | 0.001 |
|                                  | NÃO | 32                   | 190                   | (8.2 – 36.8)    |       |
| Cianose Central                  | SIM | 30                   | 16                    | 9.4             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 37                   | 186                   | (4.7 – 19.0)    |       |
| Palidez                          | SIM | 22                   | 11                    | 8.5             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 45                   | 191                   | (3.8 – 18.7)    |       |
| Alteração de perfusão            | SIM | 37                   | 09                    | 26.4            | 0.001 |
|                                  | NÃO | 30                   | 193                   | (11.6 – 60.0)   |       |
| Resíduo gástrico                 | SIM | 32                   | 15                    | 11.4            | 0.001 |
|                                  | NÃO | 35                   | 187                   | (5.6 – 23.2)    |       |
| Distensão abdominal              | SIM | 17                   | 17                    | 3.7             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 50                   | 185                   | (1.8 – 7.8)     |       |
| Hipotonia                        | SIM | 18                   | 12                    | 5.8             | 0.001 |
|                                  | NÃO | 49                   | 190                   | (2.6 – 12.9)    |       |
| Letargia                         | SIM | 15                   | 05                    | 11.4            | 0.001 |
|                                  | NÃO | 52                   | 197                   | (3.9 – 32.7)    |       |

\* p = Teste exato de Fisher, †OR = odds ratio, (valores entre parênteses correspondem aos Intervalos de Confiança 95%)

O escore foi composto por cinco variáveis: apnéia, alteração de perfusão, resíduo gástrico, hipotonia e instabilidade térmica. As variáveis: apnéia, alteração de perfusão e resíduo gástrico, que apresentaram valor mínimo do IC95% do OR maior que quatro, receberam dois pontos, as demais, com menor valor, receberam um ponto (Tabela III).

**TABELA III:** Escore para diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo de baixo peso ao nascer derivado de análise multivariada

| Escore                | p *   | OR †              | Pontos |
|-----------------------|-------|-------------------|--------|
| Apnéia                | 0.001 | 17.8 (6.4 – 49.7) | 2      |
| Alteração de perfusão | 0.001 | 17.5 (6.1 – 49.9) | 2      |
| Resíduo gástrico      | 0.001 | 12.7 (4.5 – 35.6) | 2      |
| Hipotonia             | 0.002 | 7.0 (2.1 – 23.8)  | 1      |
| Instabilidade térmica | 0.018 | 3.4 (1.2 – 9.2)   | 1      |
| TOTAL                 |       |                   | 8      |

\* p = Teste Wald, †OR = odds ratio, (valores entre parênteses correspondem aos intervalos de confiança IC 95%)

**TABELA IV:** Análise da concordância dos especialistas para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer

|                |           | Especialista 2 |           | TOTAL | A concordância no diagnóstico de SNP pelos especialistas, obtida por Kappa foi 0,64 (Tabela IV). Um terceiro especialista avaliou 36 dos 269 RNPT (12,7%), em que ocorreu discordância no diagnóstico. |
|----------------|-----------|----------------|-----------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                |           | Sepse Sim      | Sepse Não |       |                                                                                                                                                                                                        |
| Especialista 1 | Sepse Sim | 45             | 31        | 76    |                                                                                                                                                                                                        |
|                | Sepse Não | 04             | 189       | 193   |                                                                                                                                                                                                        |
| TOTAL          |           | 49             | 220       | 269   |                                                                                                                                                                                                        |

**FONTE:** Instituto Cândida Vargas -PB, abril de 2006 a maio de 2008  
Kappa: 0,64

## Discussão

A incidência de SNP clínica do estudo, definida pela concordância entre especialistas, esteve de acordo com o esperado para uma população de RNPT com BPN. Tal incidência na literatura varia de acordo com a IG e peso ao nascer entre 10% a 30,7%.<sup>19,20</sup> Foi também observada maior frequência de SNP nos pacientes com menor número de consultas durante pré-natal, menor idade gestacional e peso ao nascer, o que está de acordo com a literatura.<sup>1,15,16</sup>

Este estudo adiciona informações, uma vez que, a literatura não dispõe de critério clínico específico para o diagnóstico de SNP em RNPT com BPN. As variáveis clínicas utilizadas na elaboração do escore foram definidas considerando as peculiaridades da prematuridade, como os sinais de desconforto respiratório, que deveriam persistir por mais que 24h em uso de oxigênio, excluindo, assim, a síndrome de adaptação pulmonar.

A regressão logística foi utilizada com a finalidade de refinar a partir das 13 variáveis presentes nos RNPT com BPN e associadas com o diagnóstico de SNP (Tabela II), quais as que mais facilmente reconheceriam a doença. Um modelo de regressão logística é considerado confiável se o número de pacientes com o desfecho é 10 a 20 vezes o número de variáveis do modelo.<sup>5</sup> Neste estudo, o escore foi composto por cinco variáveis derivado de 67 crianças com diagnóstico de SNP, portanto, é considerado estatisticamente confiável.

O termo “RN que não vai bem” é definido por várias categorias de sinais como: desconforto respiratório (aumento do número de apnéia), gastrointestinais (aumento do resíduo gástrico) ou alteração de perfusão (mudança da cor da pele para mosqueada ou de cor

acinzentada)<sup>15</sup>. Embora esses dados tenham sido disponibilizados aos especialistas, como foram analisados isoladamente, a variável “RN que não vai bem” não foi incluída no modelo de regressão logística.

Usar o valor do OR ( $\beta$  coeficiente) do modelo de regressão logística para pontuar as variáveis do escore (Tabela III) deu-se porque quanto maior o valor do OR da variável, maior a chance do RNPT que a apresente ter a doença e, portanto, recebeu maior pontuação, o que esteve de acordo com estudos da literatura sobre elaboração de escore.<sup>6,8</sup>

Segundo a literatura, apnéia é um dos mais específicos sinais de sepse e sua frequência na SNP varia de 22-55%.<sup>15,16</sup> Esse sinal pode ser atribuído apenas à prematuridade, quando o estado geral do RN é bom e ele encontra-se ativo. No escore, apnéia apresentou o maior valor do OR e esteve presente em 52,2% dos RNPT com SNP. Como a população estudada foi de RNPT com BPN, com risco ou suspeita de infecção, essa variável, nessa situação, deve alertar para a possibilidade de SNP.

A alteração de perfusão também apresentou alto valor de OR e, segundo a definição da pesquisa, caracteriza quadro de choque. A presença dessa variável na ausência de história de sangramentos, como descolamento prematuro de placenta, que justificaria choque hipovolêmico e na ausência de cardiopatia congênita, já que RNPT com malformações congênitas não fizeram parte da amostra, exclui também a possibilidade da perfusão estar alterada por choque cardiogênico. Tal variável esteve presente em 55,2% dos casos de SNP e a literatura a descreve em 46% e em 95%, respectivamente, dos casos de sepse grave e com choque.<sup>15,16</sup>

Resíduo gástrico, conforme definido na pesquisa e correlacionado com a presença de fator de risco para infecção deve alertar para SNP, já que os sinais gastrointestinais são observados em 35-40% dos casos de SNP.<sup>15,16</sup> Essa variável presente em 47,8% dos RNPT com SNP, esteve entre as com maior pontuação do escore.

Instabilidade térmica esteve presente em 37,3% e hipotonia em 26,9%, dos RNPT com SNP, sua frequência na literatura é relatada como 15-28% e 25%, respectivamente.<sup>1,16</sup> Apesar de sua presença poder ocorrer em RNPT sem infecção, de acordo com a IG e peso ao nascer, no caso específico da população estudada deve ser interpretada como preditiva de SNP, porém, com menor pontuação no escore.

Existem parâmetros laboratoriais que podem auxiliar no diagnóstico de sepse neonatal. Manroe et al.<sup>21</sup> desenvolveram critério sobre valor de neutrófilos em recém-nascidos, mas na sua maioria a termo. Mas, há críticas sobre a especificidade desse critério para o diagnóstico de sepse, pois, no início do quadro infeccioso o número de neutrófilos pode ser normal.<sup>22</sup>

Escobar et al.<sup>4</sup> ao analisar a relação entre fatores preditores e a presença de infecção neonatal concluíram que a sensibilidade dos achados do exame físico foi maior que a relação neutrófilos imaturos:totais ou do número absoluto de neutrófilos para detectar sepse neonatal.

Rodwell et al.<sup>23</sup> elaboraram critério hematológico a partir de 287 RNPT e termo, com risco ou suspeita de sepse e com idade de menos de 24h a 30 dias de vida. Tal escore, portanto, não é específico para alterações hematológicas em RNPT com idade do nascimento até 72h de vida.

A PCR usada para o diagnóstico de sepse neonatal necessita medidas seriadas, o que pode ser complicado em RNPT. Além do que condições não-infecciosas, comuns entre RNPT, podem aumentar os níveis de PCR, incluindo: asfixia, ruptura prolongada de membranas, corioamnionite, pneumotórax e hemorragia intraventricular. Nem sempre está disponível a dosagem da PCR, por método acurado como a nefelometria.<sup>1,24,25</sup>

Mediadores inflamatórios, especialmente a interleucina-6, são usados para detectar infecção neonatal precoce. Porém, estudos demonstraram a elevação desta citocina em situações não-infecciosas como encefalopatia hipoxico-isquêmica e trabalho de parto prolongado. Até o momento não é possível a aplicabilidade clínica das citocinas no diagnóstico de SNP pelo alto custo.<sup>24</sup> São escassos e conflitantes os dados sobre a participação da procalcitonina como mediador da SNP, estudos relatam seu aumento em condições não-infecciosas como filhos de mães com pré-eclâmpsia, ruptura prolongada de membranas  $\geq 18h$  e asfixia.<sup>25</sup>

A decisão por não incluir dados laboratoriais no escore foi para permitir sua utilização em situações nas quais os mesmos sejam escassos. Além da imprecisão da interpretação da leucometria em prematuros e não-especificidade dos exames de atividade inflamatória.<sup>1,4,24,25</sup>

Como limitações do estudo, a definição de SNP através da concordância entre especialistas pode ter possibilitado “viés de classificação”. A pesquisa minimizou esse viés, através de: formulários padronizados em estudo piloto, contendo todos os dados que possibilitassem aos especialistas detalhes para uma interpretação uniforme, e pela análise dos casos discordantes por um terceiro especialista.<sup>3,17</sup>

A decisão em usar painel de especialistas para definir SNP decorreu do objetivo de elaborar escore a partir do diagnóstico clínico de SNP. A literatura relata esse recurso na definição de sepse, em casos com cultura negativa.<sup>4,13,14,17</sup> Neste estudo, os especialistas receberam informações sobre infecção materna, além de dados clínicos, laboratoriais e radiológicos de “follow up” das primeiras 72h de vida de todos os RNPT da amostra. A pesquisadora desconhecia as variáveis utilizadas pelos especialistas para o diagnóstico, e

apenas as variáveis clínicas dos RNPT foram analisadas para compor o escore, dessa maneira, evitou-se “bia de incorporação”.<sup>17</sup> O valor de Kappa (Tabela IV) do estudo indicou razoável a boa concordância entre os especialistas.<sup>18</sup>

Não foi possível pelo tamanho da amostra fracioná-la, para verificar se haveria diferença nas variáveis do escore nas diferentes IG e PN.

O escore desenvolvido representa um instrumento útil para diagnóstico de SNP em RNPT de BPN, tem fácil aplicabilidade, não possui custos e não é invasivo.

### **Agradecimentos**

Agradecemos aos médicos e demais funcionários do ICV, aos três especialistas que definiram os casos de SNP da pesquisa: Dr. João Medeiros Filho (Doutor de Pediatria da UFPB), Dra. Eliane Brito (Médica do Serviço de Neonatologia do HULW e ICV) e Dra. Suzana Ferraz (Mestre em Pediatria da UFPE). A Dr Wamberto Costa, médico radiologista, responsável pelos laudos radiológicos de todos os RNPT do estudo. De maneira especial, agradecemos aos familiares das crianças que participaram do estudo.

#### **“O QUE JÁ ERA CONHECIDO”**

- A dificuldade em diagnosticar sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer.

#### **“O QUE O ESTUDO ADICIONA”**

- Escore com variáveis clínicas associadas a sepse neonatal precoce, em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer, elaborado a partir de modelo de regressão logística.

Financiamento: nenhum

Competição de interesse: nenhum

## REFERÊNCIAS

01. Kaftan H, Kinney JS. Early Onset Neonatal Bacterial Infections. *Semin Perinatol*. 1998; 22: 15-24.
02. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clinics of North America*. 2004; 51:939-59.
03. WHO. The WHO Young Infants Study Group. Clinical prediction of serious bacterial infections in young infants in developing countries. *Pediatr Infect Dis*. 1999; 18:S23-38.
04. Escobar GJ, Li D, Armstrong MA, Gardner MN, Folk BF, Verdi JE et al. Neonatal Sepsis Workups in Infants  $\geq$  2000 Grams at Birth: A Population-Based Study. *Pediatrics*. 2000; 106: 256-63.
05. Bhering CA, Mochdece CC, Moreira MEL, Rocco JR, Sant'Anna GM. Modelo preditivo para displasia broncopulmonar ao final da primeira semana de vida. *J. Ped*. 2007; 83: 163-76.
06. Romagnoli C, Zecca E, Tortorolo L, Vento G, Tortorolo G. A scoring system to predict the evolution of respiratory distress syndrome into chronic lung disease in preterm infants. *Intensive Care Med*. 1998; 24: 476-80.
07. Driver JA, Gaziano JM, Gelber RP, Lee I-M, Buring JE, Kurth T. Development of a risk score for colorectal cancer in men. *American J Med*. 2007; 120: 257-63.
08. Soto A, Solari L, Agapito J, Acuna-Villalobos C, Lambert M-L, Gotuzzo E. Development of a Clinical Scoring System for the Diagnosis of Smear-negative Pulmonary Tuberculosis. *BJID*. 2008; 12: 128-32.
09. Weber MW, Carlin JB, Gatchalian S, Lehmann D, Muhe L, Mulholland EK et al. Predictors of neonatal sepsis in developing countries. *Pediatr Infect Dis J*. 2003; 22: 711-16.
10. Escobar GJ. What have we learned from observational studies on neonatal sepsis? *Pediatr Crit Care Med*. 2005; 6: S138-45.
11. Escobar GJ. Effect of the Systemic Inflammatory Response Markers of Neonatal Bacterial Infection: A Fresh Look at Old Confounders. *Clin Chem*. 2003; 49: 21-3.
12. Fowlie PW, Schmidt B. Diagnostic test for bacterial infection from birth to 90 days – a systematic review. *Arch Dis Child*. 1998; 78: 92-8.
13. Escobar GJ. The “Neonatal Sepsis Work-up”: Personal Reflections on the Development of an Evidence-Based Approach Toward NEWBORN Infection in a Managed Care Organization. *Pediatrics*. 1999; 103: 360-73.

14. Fisher JE. Physician's ability to diagnose sepsis in newborns and critically ill children. *Pediatr Crit Care Med*. 2005; 6: 120-5.
15. Silveira RC, Procianoy RS. Sepse Neonatal Precoce: diagnóstico e conduta. IN: PRORN (Programa de Atualização em Neonatologia), Porto Alegre: Artmed/Panamericana; 2004. p. 9-43.
16. Klein JO. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editores. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 943-97.
17. Knottnerus JA, Muris JW. Assessment of the accuracy of diagnostic tests: the cross-sectional study. In: Knottnerus JA. *The Evidence Base of Clinical Diagnosis*. London: BMJ Books; 2002. p. 39-59.
18. Hatanaka VMA, Benseñor IM. Avaliação de Testes Diagnósticos. In: Benseñor IM, Lotufo PA. *Epidemiologia Abordagem Prática*, editores. São Paulo: Sarvier; 2005. p. 221-45.
19. Panero A, Pacifico L, Rossi N, Mancuso G, Stegagno M, Chiesa C. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr Infect Dis J*. 1997; 16: 370-7.
20. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis –  $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr*. 1999; 88: 647-50.
21. Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr*. 1979; 95: 89-98.
22. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Clinical and Laboratory Challenge. *Clin Chem*. 2004; 50: 279-87.
23. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr*. 1988; 112: 761-7.
24. Procianoy RS, Silveira RC. The role of sample collection timing on interleukin-6 levels in early-onset neonatal sepsis. *J Pediatr*. 2004; 5: 407-10.
25. Chiesa et al. C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clin Chem*. 2003; 49: 60-8.

## **ARTIGO II- Validação de escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer**

(Submetido ao Journal of Tropical Pediatrics)



Submissão ao Journal of Tropical Pediatrics na categoria: Pesquisa

**Título: Validação de escore clínico para o diagnóstico de sepse neonatal precoce em recém-nascidos pré-termo com baixo peso ao nascer**

**Título resumido: Sepse neonatal precoce: validação escore**

Liane C. Viana<sup>1</sup>

Vera Magalhães<sup>2</sup>

Constantino Giovanni C. Braga<sup>3</sup>

**Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco**

Autor para correspondência:

Liane Carvalho Viana

Rua Antônio Lustosa Cabral nº 15, aptº 604, Cabo Branco, João Pessoa – PB, Brasil, CEP 58045-020.

e-mail: [lianecviana@hotmail.com](mailto:lianecviana@hotmail.com)

Fax: (55) 8332167308

Fone: (55) 8332264498

Número de palavras: 2162

---

<sup>1</sup> Doutor. Professora assistente, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB. Doutoranda do departamento de Medicina Tropical ( UFPE).

<sup>2</sup> Doutor. Professora Titular, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE.

<sup>3</sup> Doutor. Professor adjunto, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Coordenador da Residência Médica de Pediatria do Hospital Universitário Lauro Wanderley, UFPB, João Pessoa, PB.

## SUMÁRIO

Não há escore validado para diagnóstico de sepse neonatal precoce (SNP) em recém-nascidos pré-termo (RNPT) com baixo peso ao nascer (BPN). Esse estudo teve como objetivo avaliar a acurácia de um novo escore para o diagnóstico nesses pacientes. Os RNPT, pesando 1000–2499g, admitidos no berçário e UTIN do Instituto Cândida Vargas, nordeste do Brasil, durante abril-2006 a maio-2008, com risco ou suspeita de infecção, foram acompanhados prospectivamente até 72h de vida para detectar sepse definida por hemocultura. Dados referentes à história, exame físico e hemocultura foram coletados em formulário padronizado. O novo escore foi aplicado em todos os RNPT com BPN estudados e seu valor calculado individualmente em cada um. Os pontos de corte do escore foram analisados em comparação com as hemoculturas. Foram avaliados prospectivamente 367 RNPT com BPN. Foram excluídos três, por não apresentarem clínica de sepse, apesar de não terem recebido antibióticos e com hemocultura positiva. Setenta RNPT com BPN tiveram o diagnóstico de sepse por hemocultura positiva. O melhor ponto de corte do escore foi dois e apresentou sensibilidade de 78,6%, especificidade de 55,8%, valor preditivo negativo (VPN) de 91,6%, valor preditivo positivo (VPP) de 29,7%, razão de verossimilhança negativa (RV-) de 0,4 e razão de verossimilhança positiva (RV+) de 1,8. Em conclusão, o ponto de corte dois do escore mostrou-se útil para incrementar o diagnóstico de SNP na população estudada. Seu uso pode permitir informações adicionais, com relação a iniciar antibioticoterapia quando positivo, e não fazê-lo quando negativo, enquanto prossegue a investigação diagnóstica.

## INTRODUÇÃO

O diagnóstico de sepse neonatal precoce (SNP) em recém-nascidos pré-termos (RNPT) permanece difícil, em virtude do quadro inicial inespecífico, confundir-se com o da própria prematuridade.<sup>1-4</sup> Apesar de sua baixa sensibilidade, a hemocultura permanece como padrão de referência no diagnóstico da sepse neonatal, mas a definição da terapêutica ocorre antes de seu resultado.<sup>1,4</sup>

Os escores clínicos e laboratoriais auxiliam na decisão clínica com relação ao paciente, no sentido de: sendo negativo, ser forte evidência da ausência da doença, e, sendo positivo, sugerir o início do tratamento, enquanto resultados de exames como culturas estão em andamento. Não existe escore clínico para diagnóstico de SNP em RNPT.

A melhoria da acurácia no diagnóstico de sepse neonatal evita a perda de caso e minimiza as consequências do uso abusivo de antibióticos nas unidades neonatais.<sup>3,4</sup> Portanto, validar um escore clínico que possibilite detectar SNP em RNPT de BPN é desejável.

Validar um teste diagnóstico consiste em detectar sua acurácia em comparação com um padrão de referência, considerado como o melhor método disponível para identificar a doença.<sup>5,6</sup>

O objetivo do estudo foi estimar a acurácia diagnóstica de um novo escore clínico para o diagnóstico de SNP em RNPT com BPN.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de estudo fase III de validação diagnóstica.<sup>7</sup>

### **População do estudo**

Os RNPT incluídos na pesquisa foram acompanhados prospectivamente até 72h de vida, período definido para aparecimento da SNP.<sup>3,4,8-10</sup>

A população do estudo foi composta por RNPT com idade gestacional (IG) entre 29–36,6 semanas, definida pela data da última menstruação e/ou ultra-sonografia obstétrica, peso ao nascer 1000-2499g, admitidas no berçário e/ou Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) do Instituto Cândida Vargas (ICV), de abril/2006 a maio/2008. Todos possuíam pelo menos um dos seguintes riscos para infecção: ruptura prolongada de membranas  $\geq$  18h, corioamnionite, febre ou infecção urinária materna não tratada, líquido amniótico fétido;<sup>11</sup> ou eram suspeitos de infecção e foram investigados através de leucograma e/ou hemocultura por neonatologistas do serviço.<sup>8</sup> Os critérios de exclusão foram: malformações congênitas maiores, os investigados ou tratados como infecções congênitas (toxoplasmose, citomegalovírus, rubéola, sífilis e HIV).<sup>12</sup>

### **Protocolo Clínico**

Durante Projeto Piloto, os prontuários foram padronizados para conter todas as variáveis do estudo. Um manual de instruções, contendo as definições e informando a maneira de investigar os sinais clínicos dos RNPT, foi entregue a todos os neonatologistas que foram

treinados para coleta dos dados da pesquisa. A pesquisadora coletou, dos prontuários padronizados dos RNPT, os dados clínicos e microbiológicos do nascimento até 72h de vida.

Os sinais clínicos investigados em todas as crianças a cada 24h foram: frequência respiratória  $> 60/\text{min}$ , graves retrações torácicas, gemência, apnéia, cianose central e batimento de asa do nariz (os sinais de desconforto respiratório deveriam persistir por pelo menos 24h em uso de oxigênio), instabilidade térmica (temperatura axilar  $< 35.6^{\circ}\text{C}$  ou  $> 37.5^{\circ}\text{C}$ ), distensão abdominal, resíduo gástrico (volume aspirado antes das dietas  $> 20\%$  do volume total a ser oferecido dentro de 24h), hepatomegalia, icterícia idiopática, alteração de perfusão (palidez, pele fria ou úmida, tempo de enchimento capilar  $> 3\text{s}$ , uso de reposição volumétrica ou vasopressor), hipotonia, convulsão, letargia, irritabilidade, coagulação intravascular disseminada, “RN que não vai bem” (mudança na cor da pele para moteada, bradicardia, aumento do número de apnéias, necessidade de reanimação com ventilação com pressão positiva ou de aumento na concentração de oxigênio após ter apresentado melhora clínica), esclerema.<sup>13-15</sup>

A coleta de hemocultura foi padronizada e realizada pelo kit Hemoprov I, T.S.B / S.P.S /  $\text{CO}_2$  e vácuo, foi coletado 1,0 mL de sangue de cada recém-nascido antes do início da antibioticoterapia empírica.<sup>8,9</sup>

O novo escore clínico a ser testado (Tabela 1) foi elaborado em outra população de RNPT com BPN e foi aplicado a todos os RNPT da amostra de validação, para ser comparado de maneira mascarada e independente, com os resultados das hemoculturas.

**Tabela 1** - Escore clínico para diagnóstico de sepse neonatal precoce em pré-termo de baixo peso ao nascer derivado de análise multivariada

| Escore                | p *   | OR †              | Pontos |
|-----------------------|-------|-------------------|--------|
| Apnéia                | 0.001 | 17.8 (6.4 – 49.7) | 2      |
| Alteração de perfusão | 0.001 | 17.5 (6.1 – 49.9) | 2      |
| Resíduo gástrico      | 0.001 | 12.7 (4.5 – 35.6) | 2      |
| Hipotonia             | 0.002 | 7.0 (2.1 – 23.8)  | 1      |
| Instabilidade térmica | 0.018 | 3.4 (1.2 – 9.2)   | 1      |
| TOTAL                 |       |                   | 8      |

\* p = Teste Wald, †OR = odds ratio, (valores entre parênteses correspondem aos intervalos de confiança IC 95%)

### Definição de sepse da pesquisa

SNP foi definida através de hemocultura positiva coletada dentro das 72h de vida.<sup>9,10,11,16,17</sup>

### **Análise dos dados**

Os dados foram armazenados com dupla entrada em banco de dados do pacote estatístico Epi Info versão 6.0 e analisados em programa SPSS versão 13.0 e no Programa Diagnostic Test Calculator, disponível em: <http://cybermango.org/cgi-bin/testcalc.pl>. O escore a ser testado e o padrão de referência foram analisados de maneira independente e mascarada.

### **Tamanho da amostra**

A estimativa do tamanho amostral foi baseada em sugestão de Flahault et al.<sup>18</sup>, em estudo de teste diagnóstico com a prevalência da doença abaixo de 50%. Assumindo um valor esperado para sensibilidade (ou especificidade) de 85%, deve-se ter, para que a amostra seja representativa, 52 casos diagnosticados pelo padrão de referência. Esse número de casos permite que em um intervalo de confiança de 95%, o limite mínimo da sensibilidade (ou especificidade), esteja acima de 0,65. O número de controles ( $n_c$ ) foi obtido pela expressão:

$$n_c = \text{número de casos}[(1 - \text{Prevalência}) / \text{Prevalência}].$$

A prevalência de SNP clínica da literatura varia de acordo com idade gestacional e peso ao nascer entre 10% a 47%.<sup>11,19,20</sup> Esse estudo considerou uma prevalência de 15%, portanto o número de controles foi calculado em 294.

A pesquisa foi aprovada em Comitê de Ética para Pesquisa. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado por parte dos pais ou responsáveis.

## **RESULTADOS**

Inicialmente 367 RNPT foram avaliados, três foram excluídos por não apresentarem clínica de sepse, apesar de não terem recebido antibióticos e com hemocultura positiva. Dentre 416 hemoculturas realizadas nos RNPT da amostra, 70 foram positivas (16,8 %).

Com relação às características gerais da população estudada, observou-se diferença estatística no sexo masculino em relação ao feminino no grupo com SNP (Tabela 2).

**Tabela 2** - Características da população estudada em relação a presença ou ausência de sepse neonatal precoce

|                                                    |       | Com sepse<br>(n=70) | Sem sepse<br>(294) | P        |
|----------------------------------------------------|-------|---------------------|--------------------|----------|
| Escolaridade materna<br>(anos completos de estudo) | Média | 7,1                 | 7,1                | 0,927 *  |
|                                                    | DP †  | 3,4                 | 3,3                |          |
|                                                    | IC ‡  | 6,28 – 7,89         | 6,65 – 7,44        |          |
| Idade materna<br>(anos)                            | Média | 24,9                | 23,6               | 0,125 *  |
|                                                    | DP †  | 6,8                 | 6,4                |          |
|                                                    | IC ‡  | 23,35 – 26,59       | 22,86 – 24,4       |          |
| Número de consultas pré-natal                      | Média | 4,7                 | 4,8                | 0,813 *  |
|                                                    | DP †  | 2,8                 | 2,2                |          |
|                                                    | IC ‡  | 4,06 – 5,40         | 4,53 – 5,07        |          |
| Idade gestacional<br>(semanas)                     | Média | 33,2                | 33,4               | 0,504 *  |
|                                                    | DP †  | 1,8                 | 1,9                |          |
|                                                    | IC ‡  | 32,80 – 33,60       | 33,20 – 33,60      |          |
| Peso ao nascer<br>(gramas)                         | Média | 1740                | 1866               | 0,063 *  |
|                                                    | DP †  | 513                 | 501                |          |
|                                                    | IC ‡  | 1617 - 1862         | 1805 - 1926        |          |
| Sexo masculino: feminino                           | N     | 46 : 24             | 157 : 137          | 0,041 ** |
| Parto cirúrgico: eutócico                          | N     | 42 : 28             | 174 : 120          | 0,506 ** |

\* p Mann-Whitney, † p teste exato de Fisher, ‡ Desvio padrão, § Intervalo de confiança 95%

Antibioticoterapia foi administrada a 321 (95,8%) das crianças por pelo menos sete dias. O uso de antibióticos ocorreu em 74,9% dos recém-nascidos com hemocultura negativa e em 45,3% do grupo com escore negativo.

Os pontos de corte do novo escore foram analisados em relação às hemoculturas (Tabela 3).

**Tabela 3** - Validação do escore para diagnóstico de sepse neonatal precoce em prematuros de baixo peso em relação às hemoculturas

| Escore | Hemocultura<br>Positiva | Hemocultura<br>Negativa | Sensibilidade<br>(IC 95%) | Especificidade<br>(IC 95%) | VPP *<br>(IC 95%) | VPN †<br>(IC 95%) | RV+ ‡<br>(IC 95%) | RV- §<br>(IC 95%) | Acurácia<br>(IC95%) |
|--------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| ≥ 1    | 57                      | 154                     | 81.4%                     | 47.6%                      | 27.0%             | 91.5%             | 1.6               | 0.4               | 54.1%               |
| < 1    | 13                      | 140                     | (71.0- 89.3)              | (41.9-53.3)                | (21.3-33.3)       | (86.3-95.2)       | (1.3-1.8)         | (0.2-0.6)         | (49.0-59.2)         |
| ≥ 2    | 55                      | 130                     | <b>78.6%</b>              | <b>55.8%</b>               | <b>29.7%</b>      | <b>91.6%</b>      | <b>1.8</b>        | <b>0.4</b>        | <b>60.2%</b>        |
| < 2    | 15                      | 164                     | (67.8- 86.9)              | (50.1-61.4)                | (23.5-36.6)       | (86.9-95.1)       | (1.5-2.1)         | (0.2-0.6)         | (55.1-65.1)         |
| ≥ 3    | 35                      | 78                      | 50%                       | 73.5%                      | 31.0%             | 86.1%             | 1.9               | 0.7               | 68.9%               |
| < 3    | 35                      | 216                     | (38.4- 61.6)              | (68.2-78.3)                | (23.0-40.0)       | (81.3-89.9)       | (1.4-2.5)         | (0.5-0.9)         | (64.1-73.6)         |

\* VPP = valor preditivo positivo, † VPN= valor preditivo negativo, ‡ RV+ = razão verossimilhança positiva, § RV- = razão verossimilhança negativa (valores entre parênteses correspondem aos intervalos de confiança IC 95%)

O melhor ponto de corte considerado pela pesquisa foi o dois, ao analisar os valores de sensibilidade em relação à especificidade. Esse ponto de corte será discutido a seguir.

## DISCUSSÃO

A incidência de SNP provada por hemocultura nessa pesquisa foi de 16,8%, similar aos resultados reportados na literatura que varia entre 1,9%<sup>11,16</sup> a 18,8%.<sup>2,3,8,19-21</sup>

Foi detectada diferença estatística significativa em relação ao sexo masculino e a presença de SNP (Tabela 2), o que é comumente relatado pela literatura.<sup>9,10,13</sup>

A importância desta pesquisa foi testar novo escore elaborado através de regressão logística, composto por variáveis com alto poder de associação com SNP e específico para RNPT de BPN. As variáveis clínicas foram definidas de maneira refinada, levando em consideração a idade gestacional, e o estudo utilizou análise estatística detalhada dos pontos de corte em relação com as hemoculturas.

O escore foi testado em RNPT admitidos em berçário e UTIN, incluindo os com sinais mais precoces e duvidosos até os com clínica mais grave, sendo assim, a amostra teve completa representação do espectro de pacientes para os quais o teste se propõe a ser aplicado na prática médica.

Setenta RNPT foram diagnosticados através de hemoculturas como SNP e 294 sem SNP. De acordo com Bachmann et al.<sup>22</sup>, que analisaram as amostras de 43 estudos em testes diagnósticos, a média amostral foi de 118, em casos prevalência da doença em torno de 43%. A média de número de pacientes com a doença, necessária para calcular a sensibilidade do teste, foi de 49 e sem a doença, necessária para calcular a especificidade do teste, foi de 76. Portanto, nessa pesquisa o tamanho da amostra foi suficiente para o cálculo de sensibilidade e especificidade.

Utilizando o ponto de corte dois, 15 (4,1%) dos RNPT apresentaram escore negativo ( $< 2$ ) e possuíam hemocultura positiva. Porém, 130 RNPT (35,7%) com o diagnóstico de SNP pelo escore positivo ( $\geq 2$ ) possuíam hemocultura negativa. Portanto, ciente da baixa sensibilidade da hemocultura, o número de pacientes que seriam diagnosticados pelo escore em relação ao resultado da hemocultura seria maior que o número de RNPT sem o diagnóstico pelo escore em relação à hemocultura (Tabela 3).

A maior frequência de uso de antibióticos no grupo com hemocultura negativa em relação ao grupo com escore negativo, chama atenção para o fato de que, caso o escore fosse utilizado para decidir sobre o início da antibioticoterapia, teríamos uma redução de 31,3% no uso de antibióticos nessas crianças.

A sensibilidade de 78,6% significa que oito em 10 RNPT seriam diagnosticados pelo escore e teriam terapêutica iniciada para SNP; e apenas dois em 10 seriam falso-negativos e não receberiam terapêutica apropriada.<sup>5,6</sup> Em SNP, devida sua alta gravidade, é necessário teste com alta sensibilidade.<sup>1</sup> O valor encontrado pode ser considerado satisfatório já que, a hemocultura possui sensibilidade muito menor. Testes laboratoriais para o diagnóstico de sepse neonatal, não-específicos para RNPT, variam em sensibilidade entre 50 e 96%.<sup>2,21,23,24</sup>

A especificidade de 55,8% significa que seis em 10 RNPT teriam testes negativos e não teriam a doença; e quatro em 10 RNPT seriam falso-positivos e receberiam tratamento desnecessário.<sup>5,6</sup> Com relação à reduzida especificidade é aceitável em se tratando de doença de alta gravidade.<sup>1,2,4,23,24</sup>

O escore laboratorial de Rodwell et al.<sup>21</sup> quando  $\geq 3$  oferece sensibilidade de 96% e especificidade de 78%, porém, esse escore não especifica as alterações laboratoriais em RNPT com idade do nascimento até 72h de vida. Além do que, no início do quadro de sepse, os índices de leucócitos podem ser normais, prejudicando a suspeita da doença através de dados laboratoriais.<sup>1</sup>

Philip & Hewitt,<sup>2</sup> em estudo com apenas 29 casos com hemocultura positiva, avaliaram a utilidade de testes laboratoriais para predizer sepse neonatal e relataram sensibilidade, especificidade e VPP de 93, 88 e 39%, respectivamente. Estudos sobre o uso de marcadores inflamatórios para detectar infecção neonatal tem resultados conflitantes e além de caros e demorados, não são sensíveis, nem específicos o suficiente para decidir tratar ou suspender antibióticos. Os valores de interleucina-6 e da procalcitonina variam, de acordo com maior tempo de vida, com média sensibilidade de 70-80% ao nascimento.<sup>24,26</sup>

O valor preditivo positivo (VPP) de 29,7% indica a probabilidade em ter a doença em caso de teste positivo, o resultado do escore está próximo ao de outros estudos.<sup>23,24</sup> Em SNP são de certa forma aceitáveis a reduzida especificidade e baixo VPP de testes diagnósticos, já que o uso de antibióticos, baseado em resultados falso-positivos, é menos prejudicial que o não tratamento de um caso falso-negativo.<sup>1,4</sup>

O VPN indica a probabilidade de não ter a doença sendo o escore negativo. O VPN de 91,6%, está próximo do VPN da proteína C reativa (PCR) relatada como 95% para o início do quadro de sepse neonatal.<sup>23,24</sup> Como a tendência da prática clínica no manejo de crianças com suspeita de infecção é pelo alto VPN das escalas diagnósticas.<sup>5,6,25</sup> A aplicação desse escore clínico, pelo seu alto VPN, é útil, especialmente, em locais com escassos recursos laboratoriais.

Os VPP e VPN do ponto de corte dois do escore foram semelhantes aos relatados em testes laboratoriais não-específicos para diagnosticar SNP em RNPT.<sup>2,21,23,24</sup>

A acurácia do ponto de corte dois do escore foi de 60,2%, e significa o valor global do teste estudado, através da proporção de todos os resultados corretos dos testes, tanto os positivos quanto os negativos.<sup>5</sup> Acurácia diagnóstica em sepse neonatal é difícil porque não há teste diagnóstico definitivo, pois, mesmo a hemocultura tem baixa sensibilidade. Em decorrência, os clínicos devem aceitar que alguns neonatos que não possuem a doença terão tratamento iniciado para sepse.<sup>1</sup>

A RV- de 0.4 significa a probabilidade de que quatro em 10 RNPT com o escore negativo tenham a doença, em relação aos RNPT sem a doença. A RV+ de 1,8 significa que, a chance do teste ser positivo em recém-nascidos pré-termo com SNP é quase duas vezes maior que naqueles sem a doença.<sup>5</sup> Ao interpretar os valores de RV, verificamos com relação ao valor da RV+ que altera pouco a probabilidade pós-teste da doença e de forma raramente importante; com relação ao valor da RV- gera mudanças pequenas, mas, ainda assim importantes.<sup>5</sup>

A limitação desse estudo foi a baixa sensibilidade da hemocultura usada como “padrão de referência”. Tal fato pode ter subestimado a verdadeira frequência de SNP, além do fato de apenas ter sido coletado uma hemocultura na maioria dos RNPT, afetando a acurácia do exame. Isolar a bactéria em hemocultura é o teste mais específico para diagnóstico de sepse, mas com muitos resultados falso-negativos para qualificá-lo como “padrão-ouro” de diagnóstico<sup>10</sup>. Assim como aconteceu em três crianças excluídas desse estudo, contaminação de hemocultura deve ser considerada em crianças assintomáticas.<sup>23</sup>

Ao comparar um novo teste com um padrão de referência imperfeito, considerado o melhor disponível, um paradoxo pode surgir: o novo teste pode parecer pior, mesmo que seja melhor. O que pode ser explicado pelo fato de que se o novo teste tem alta sensibilidade, os pacientes identificados pelo teste serão considerados negativos por um padrão de referência com baixa sensibilidade; portanto, os casos positivos para o novo teste serão considerados falso-positivos para o padrão de referência.<sup>5,6</sup>

Conclui-se que o escore pode permitir informações adicionais com relação a iniciar antibióticos quando for positivo e não fazê-lo quando negativo, enquanto se continua a investigação diagnóstica. Sendo assim, pode contribuir para início precoce da terapêutica, para redução de custos hospitalares e prevenção de resistência bacteriana em unidades neonatais.

## **Agradecimentos**

Agradecemos aos médicos e demais funcionários do ICV, ao laboratório de bacteriologia Dra. Marluce Vasconcelos e ao Dr. João Medeiros Filho pela revisão do artigo. De maneira especial, agradecemos aos familiares dos RNPT que participaram do estudo.

## REFERÊNCIAS

01. Gerdes JS. Clinicopathologic Approach to the Diagnosis of Neonatal Sepsis. Clin Perinatol. 1991; 18:361-81.
02. Philip AGS, Hewitt JR. Early Diagnosis of Neonatal Sepsis. Pediatrics. 1980; 65: 1036-41.
03. Philip AGS. Decrease use of antibiotics using a neonatal sepsis screening technique. Pediatrics. 1981; 98: 795-9.
04. Gerdes JS, Polin R. Early Diagnosis and Treatment of Neonatal Sepsis. Indian J Pediatr. 1998; 65: 63-78.
05. Hatanaka VMA, Benseñor IM. Avaliação de Testes Diagnósticos. In: Benseñor IM, Lotufo PA. Epidemiologia Abordagem Prática [editores]. São Paulo: Sarvier; 2005. p.221-44.
06. Fletcher RH, Fletcher SW. Diagnóstico In: Fletcher RH, Fletcher SW. Epidemiologia Clínica. Elementos Essenciais. Porto Alegre: Artmed; 2006. p.56-81.
07. Sackett DL, Haynes RB. The architecture of diagnostic research. In: Knottnerus A. The evidence base of clinical diagnosis. London: BMJ Books; 2002. p.19-37.
08. Vieira RCS, Procianoy RS, Mulle LD, Prado CHA. Repercussão da antibioticoterapia materna intraparto no diagnóstico de sepse neonatal precoce. J Ped. 1997; 73: 171-5.
09. Kaftan H, Kinney JS. Early Onset Neonatal Bacterial Infections. Semin Perinatol. 1998; 22: 15-24.
10. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. Pediatr Clin North Am. 2004; 51: 939-59.
11. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR et al. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. J. Pediatric. 1996; 129:72-80.
12. Vaz FAC, Ceccon MEJ, Diniz EMA, Valderato F. Indicadores imunológicos (IgM e proteína C reativa) nas infecções neonatais. Rev Ass Med Bras. 1988; 44: 185-95.
13. Silveira RC, Procianoy RS. Sepse Neonatal Precoce: diagnóstico e conduta. IN: PRORN (Programa de Atualização em Neonatologia), Porto Alegre: Artmed/Panamericana; 2004. p. 9-43.

14. ANVISA. Proposta de Manual sobre a definição dos critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde em neonatologia. <http://www.anvisa.gov.br/divulga/consulta/index.htm> (5 May 2008, date last accessed).
15. Klein JO. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editores. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 943-97.
16. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Change in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N. Engl J Med.* 2002; 347: 240-7.
17. Escobar GJ. The “Neonatal Sepsis Work-up”: Personal Reflections on the Development of an Evidence-Based Approach Toward NEWBORN Infection in a Managed Care Organization. *Pediatrics.* 1999; 103: 360-73.
18. Flahault A, Cadilhac M, Thomas G. Sample size calculation should be performed for design accuracy in diagnostic test studies. *J Clin Epidemiol.* 2005; 58: 859-62.
19. Panero A, Pacifico L, Rossi N, Mancuso G, Stegagno M, Chiesa C. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1997; 16: 370-7.
20. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis –  $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr.* 1999; 88: 647-50.
21. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr.* 1988; 112: 761-7.
22. Bachmann LM, Puhan MA, Riet t G, Bossuyt PM. Sample sizes of studies on diagnostic accuracy: literature survey. *BMJ.* 2006; 332: 1127-9.
23. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Clinical and Laboratory Challenge. *Clin Chem.* 2004; 50: 279-87.
24. Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, Osborn JF, Signore F, Assumma M et al. C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clin Chem.* 2003; 49: 60-8.
25. Bonadio WA, Hennes H, Smith D, Ruffing R, Melzer- Lange M, Lye P et al. Reability of observation variables in distinguishing infectious outcome of febrile young infants. *Pediatr Infect Dis J.* 1993; 12:111-4.
26. Procianoy RS, Silveira RC. The role of sample collection timing on interleukin-6 levels in early-onset neonatal sepsis. *J Ped.* 2004; 5: 407-10.

## **CONCLUSÕES**

## 7 CONCLUSÕES

Foi possível, utilizando a regressão logística, elaborar escore clínico para diagnóstico de SNP em RNPT composto por: apnéia, alteração de perfusão, resíduo gástrico, hipotonia e instabilidade térmica. Suas variáveis clínicas, comumente avaliadas na prática diária de serviços de neonatologia, possibilitam sua fácil aplicabilidade. Representa um instrumento útil para diagnóstico de SNP em RNPT de BPN, não possui custos e não é invasivo. Sua validação, em relação à hemocultura, mostrou ser dois o melhor ponto de corte, pelo valor da sensibilidade em relação à especificidade. Propicia informações adicionais, no sentido de iniciar antibióticos em RNPT, com risco ou suspeita de infecção, nos casos com escore maior ou igual a dois, e não fazê-lo, nos casos com menor valor, enquanto a investigação diagnóstica prossegue. Sendo assim, poderá contribuir para início precoce da terapêutica e também para redução no uso de antibióticos, e, portanto, dos custos hospitalares e desenvolvimento de resistência bacteriana em unidades neonatais.

Recomenda-se testar o escore em outra população de RNPT com BPN, realizando duas coletas de hemocultura em cada paciente e utilizando método automatizado, o que pode aumentar a acurácia do teste.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assegurar que os resultados desse estudo poderão definir estratégias na avaliação de RNPT com risco ou suspeita de infecção foge aos objetivos do estudo. Recomendamos testar o ponto de corte dois do escore em RNPT de amostra diferente usando a hemocultura realizada com método automatizado e duas coletas de hemocultura em cada paciente, permitindo maior chance de diagnóstico de pacientes.

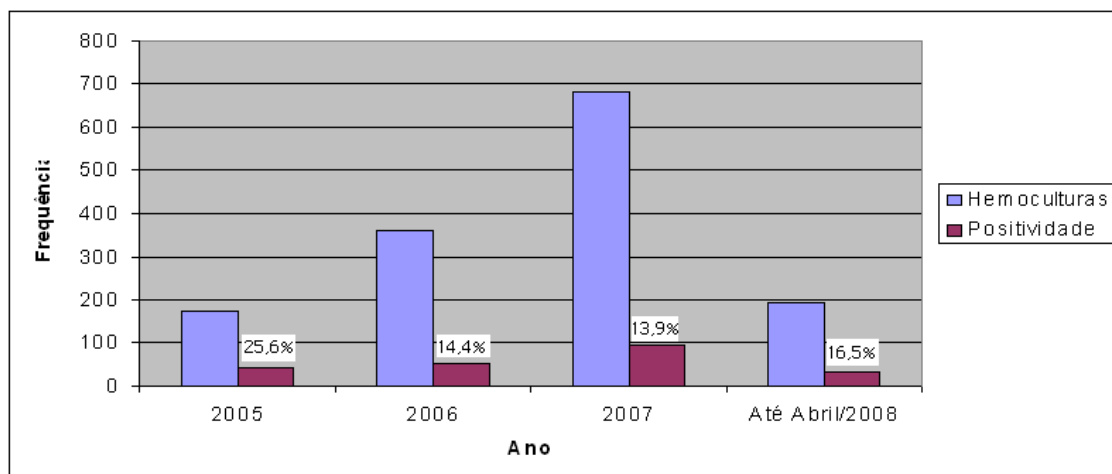
Ocorreram as seguintes melhorias no serviço após início da pesquisa:

- Padronização das fichas dos prontuários de nascimento e evolução em berçário e UTIN do serviço, permitindo assinalar com (x) a presença ou ausência de dados clínicos, facilitando a pesquisa uniforme de alterações na evolução clínica e facilitando para futuras pesquisas.

- A coleta das hemoculturas passou a fazer parte da rotina do serviço antes do início de antibioticoterapia, inclusive no período da noite, feriados e finais de semana. O resultado foi um aumento na realização de hemocultura nas crianças nascidas no ICV após o início da pesquisa conforme demonstra o gráfico 1, que compara o número de hemoculturas realizadas no período antes da pesquisa (2005) e durante a pesquisa (2006 – 2008).

- A partir do ano de 2009 foi iniciado o método Bactec<sup>R</sup> para realização das hemoculturas;

- Diante da presença de hemoculturas positivas em crianças sem clínica e com boa evolução na ausência do uso de antibióticos, fizemos reunião entre: Coordenação do berçário e UTIN, Comissão da CCIH, Chefia do laboratório e da enfermagem do ICV e responsável pela microbiologia do laboratório terceirizado que efetua as hemoculturas do ICV, para que todos agissem no sentido de minimizar os resultados falso-positivos desse exame. A partir dessa reunião, houve uma mudança na padronização da coleta das hemoculturas e cada responsável fez com que sua equipe tomasse conhecimento das mudanças. Após a adoção dessa norma, não mais houve caso de resultado falso-positivo até o final do período da coleta da amostra.



**Gráfico 1** - Número de hemoculturas realizadas nos recém-nascidos do ICV – João Pessoa - ano 2005 e durante realização da pesquisa de abril-2006 a maio 2008

## **REFERÊNCIAS**

## 9 REFERÊNCIAS \*

\* Segundo ABNT NBR – 6023 (2002)

ALEXANDER, G.R. et al. Factors influencing the relationship between a newborn assessment of gestational maturity and the gestational age interval. **Paediatr Perinat Epidemiol**, v. 4, n.2, p.133-146, 1990.

ALEXANDER, G.R. et al. Validity of postnatal assessments of gestational age: a comparison of the method of Ballard et al. and early ultrasonography. **Am J Obstet Gynecol**, v. 166, n.3, p.891-895, 1992.

ANVISA. **Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para controle de infecção hospitalar**: módulo 1 / Ministério da Saúde, 2001.

ANVISA. **Proposta de Manual sobre a definição dos critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde em neonatologia**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/consulta/index.htm> Acesso em: 05 maio 2008.

BHERING, C.A. et al. Modelo preditivo para displasia broncopulmonar ao final da primeira semana de vida. **J Pediatr**, v.83, n.2, p.163-176, 2007.

BONADIO, W.A. et al. Reability of observation variables in distinguishing infectious outcome of febrile young infants. **Pediatr Infect Dis J**, v.12, n..2, p.111-114, 1993.

BONE, R.C. Let's agree on terminology: Definitions of sepsis. **Critical Care Medicine**, v.19, n.7, p.973 –977, 1991.

BOSSUYT, P.M. et al. The STARD Statement for Reporting Studies of Diagnostic Accuracy: Explanation and Elaboratio. **Clinical Chemistry**, v.49, n.1, p.7-18, 2003.

CALIL, R. et al. Infecções Hospitalares em Neonatologia.In: **Pediatria: prevenção e controle de infecção hospitalar**. Brasília: ANVISA; 2006. p.39-62.

CARLET, J. Rapid diagnostic methods in the detection of sepsis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.13, p.483-492, 1999.

CARVALHO, P.R.A.; TROTTA, E.A. de. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. **J Ped**, v.79, p.S195 – S204, 2003.

CHIESA, C. et al. Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Clinical and Laboratory Challenge. **Clinical Chemistry**, v.50, p. 279 – 287. 2004.

DEEKS, J.J.; ALTMAN, D.G. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. **BMJ**, v.329, p.168 –169, 2004.

ESCOBAR, G.J. The “Neonatal Sepsis Work-up”: Personal Reflections on the Development of an Evidence-Based Approach Toward Newborn Infection in a Managed Care Organization. **Pediatrics**, v.103, n.1, p.360-373, 1999.

ESCOBAR, G.J. et al. Neonatal Sepsis Workups in Infants  $\geq 2000$  Grams at Birth: A Population-Based Study. **Pediatrics**, v.106, n.2, p. 256-263, 2000.

ESCOBAR, G.J. What have we learned from observacional studies on neonatal sepsis. **Pediatr Crit Care Med**, v.6, n.3, p.S138-S145, 2005.

FERRAZ, .SV. da C. **Sepse Neonatal: um Estudo de Incidência e Fatores de Risco** no Instituto Materno Infantil de Pernambuco. 2000. 122 f. Dissertação (Mestrado em Pediatria)-Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

FINAMOR, L.P. dos S. et al. Teleoftalmologia como auxílio diagnóstico nas doenças infecciosas e inflamatórias oculares. **Rev Assoc Med Bras**, v.51, n. 5, p. 279-284, 2005.

FISHER, J.E. Physicians’ ability to diagnose sepsis in newborns and critically ill children. **Pediatr Crit Care Med**, v.6, n.3, p.S120-S125, 2005.

FLAHAULT, A. et al. Sample size calculation should be performed for design accuracy in diagnostic test studies. **Journal of Clinical Epidemiology**, v.58, p.859 – 862, 2005.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W. Diagnóstico. In: **Epidemiologia Clínica**. Elementos Essenciais. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. p.56-81.

FRIEDMAN, G. Sepse e Choque Séptico. In: ASSOCIAÇÃO DE MEDICINA INTENSIVA BRASILEIRA. **PROAMI** (Programa de Atualização em Medicina Intensiva). Porto Alegre: Artmed/Panamericana, 2004. p. 9 – 65.

GERDES, J.S. Clinicopathologic Approach to the Diagnosis of Neonatal Sepsis. **Clin Perinatol**, v. 18, n.2, p.361- 381, 1991.

GERDES, J.S.; POLIN, R. Early Diagnosis and Treatment of Neonatal Sepsis. **Indian J Pediatr**, v.65, n.1, p.63-78, 1998.

GERDES, J.S. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. **Pediatric Clinics of North America**, v.51, n.4, p.939-959, 2004.

GOLDSTEIN, B. et al. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. **Pediatr Crit Care Med**, v.6, n.1, p.2-8, 2005.

GREENBERG, R.S. et al. **Epidemiologia Clínica**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

GUYATT, G. et al. Avaliando Testes Diagnósticos. In: HAYNES, R.B. et al. **Epidemiologia Clínica Como realizar pesquisa clínica na prática**, 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.p.305-356.

HATANAKA, V.M.A.; BENSEÑOR, I.M. Avaliação de Testes Diagnósticos. In: BENSEÑOR, I.M.; LOTUFO P.A. **Epidemiologia Abordagem Prática** (Ed). São Paulo: Sarvier, 2005. p.221-244.

HERRMANN, D.M.M.L. **Marcadores inflamatórios (interleucina-1 $\beta$ , interleucina-6, interleucina-8, interleucina-10 e proteína C-reativa) em recém-nascidos pré-termo com sepse neonatal precoce e corioamnionite histológica**. 2003. 148f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

JIANG, J.H et al. Neonatal sepsis in the neonatal intensive care unit: characteristics of early versus late onset. **J Microbiol Immunol Infect**, v.37, p.301-306, 2004.

KAFTAN, H.; KINNEY, J.S. Early Onset Neonatal Bacterial Infections. **Semin Perinatol**, v.22, n.1, p.15-24, 1998.

KLEIN, J.O. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: REMINGTON, J.S. KLEIN, J.O. (ed). **Infections diseases of the fetus and newborn infant**. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p.943 – 997.

KNOTTNERUS, J.A.; MURIS, J.W. Assessment of the accuracy of diagnostic tests: the cross-sectional study. In: KNOTTNERUS, J.A. **The Evidence Base of Clinical Diagnosis**. London: BMJ Books, 2002. p.39-59.

KRUEGER, M. et al. Cord Blood Levels of Interleukin-6 Interleukin-8 for the Immediate Diagnosis of Early-Onset Infection in Premature Infant. **Biol of the Neonate**, v.80, p.118-123, 2001.

MANROE, B.L., et al. The neonatal blood count in health and disease. I Reference values for neutrophilic cells. **J Pediatr**, v.95, n.1, p.89-98, 1979.

MARTIUS, J.A. et al. Risk factors associated With early – onset sepsis in premature infants. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v.85, p.151-158, 1999.

MESSER, J. et al. Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. **J Pediatr**, v.129, n.4, p.574 –580, 1996.

MORAES, C.L.; REICHENHEIM, M.E. Validade do exame clínico do recém-nascido para a estimação da idade gestacional: uma comparação do escore New Ballard com a data da última menstruação e ultra-sonografia. **Cad Saúde Pública**, v.16, n.1, p.83-94, 2000.

MIURA, E. et al. Seps neonatal: diagnóstico e tratamento. **J Ped**, v.75, p.S57-S62, 1999.

- MIURA, E. Diagnóstico e tratamento de sepse neonatal de início tardio e uso de imunomodulares. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **PRORN** (Programa de Atualização em Neonatologia), Porto Alegre: Artmed/Panamericana, 2004. p.85-116.
- MUSSI-PINHATA, M.M. et al. Early-onset Bacterial Infection in Brazilian Neonates with Respiratory Distress: A Hospital – based study. **Journal of Tropical Pediatrics**, v.50, n.1, p.6-11, 2004.
- NEWMAN, T.B.et al. Delineando Estudos de Testes Médicos. In: HULLEY, S.B, et al. **Delineando Pesquisa Clínica**. Uma abordagem epidemiológica, 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.203-224.
- PANERO, A. et al. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. **Pediatr Infect Dis J**, v.16, p.370-377, 1997.
- PHILIP, A.G.S.; HEWITT, J.R. Early Diagnosis of Neonatal Sepsis. **Pediatrics**, v.65, n.5, p.1036 -1041, 1980.
- POLIN, R.A. The “ins and outs” of neonatal sepsis. **J. Pediatr**, v.143, n.1, p. 3- 4, 2003.
- PROCIANOY, R.S.; SILVEIRA, R.C. A influência do tempo de coleta sobre os níveis de interleucina-6 na sepse neonatal precoce. **J Ped**, v.80, p.407-410, 2004.
- RICHTMANN, R. Definição, Vigilância epidemiológica, Classificação das IH por topografia. In: \_\_. **Guia Prático de Controle de Infecção Hospitalar**. São Paulo: SORIAK, 2005. p.12-22.
- RODWELL, R.L. et al. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. **The Journal of Pediatrics**, v.112, p.761-767, 1988.
- ROMAGNOLI, C. et al. A scoring system to predict the evolution of respiratory distress syndrome into chronic lung disease inpreterm infants. **Intensive Care Med**, v.24, p.476 –480, 1998.
- RUGOLO, L.M.S.S. Infecções Adquiridas. In: SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO. Departamento de Neonatologia. **Manual de Neonatologia**. 2.ed. São Paulo: Revinter, 2000. p.221-226.
- SACKETT, D.L.; HAYNES, R.B. The architecture of diagnostic research. In: KNOTTNERUS, A. **The evidence base of clinical diagnosis**. London: BMJ Books, 2002. p.19-37.
- SANDERS, M. et al. Gestational age assessment in preterm neonates weighing less than 1500 grams. **Pediatrics**. v.88, n.3, p.542-546, 1991.

SHORT, M.A. Guide to a Systematic Physical Assessment in the Infant with Suspected Infection And/or Sepsis. **Advances in Neonatal Care**, v.4, n.3, p.141–153, 2004.

SILVEIRA, R.C.; PROCIANOY, R.S. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis –  $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  for early diagnosis of neonatal sepsis. **Acta Paediatr**, v.88, n.6, p.647-650, 1999.

SILVEIRA, R.C.; PROCIANOY, R.S. Sepse Neonatal Precoce: diagnóstico e conduta. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **PRORN** (Programa de Atualização em Neonatologia), Porto Alegre: Artmed/Panamericana, 2004. p. 9 – 43.

SINGH, M. et al. Predictive Perinatal Score in the Diagnosis of Neonatal Sepsis. **Journal of Tropical Pediatrics**, v.40, p. 365-368, 1994.

SINGH, A. et al. Predictive Clinical Scores for Diagnosis of Late Onset Neonatal Septicemia. **Journal of Tropical Pediatrics**, v.49, n.4, p.235-239, 2003.

SOTO A. et al. Development of a Clinical Scoring System for the Diagnosis of Smear-negative Pulmonary Tuberculosis. **BJID**, v.12, n.2, p.128-132, 2008.

STOLL, B.J. et al. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. **J. Pediatric**, v.129, n.1, p. 72-80, 1996.

STOLL, B.J. Neonatal Infections: A Global Perspective. In: REMINGTON, J.S.; KLEIN, J.O. (Ed). **Infections diseases of the fetus and newborn infant**. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p. 139–168.

STOLL, B.J. et al. Change in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. **N. Engl J Med**, v.347, n.4, p. 240-247, 2002.

TÖLLNER, U. Early Diagnosis of Septicemia in the Newborn. **Eur J Pediatr**, v.138, p.331-337, 1982.

VIDYASAGAR, D. A new score to detect neonatal nosocomial infection. **Crit Care Med**, v.28, n.6, p.2166-2167, 2000.

VIEIRA, R.C.S. de et al. Repercussão da Antibioticoterapia materna intraparto no diagnóstico de sepse neonatal precoce. **J Ped**, v.73, n.3, p. 171 – 175, 1997.

WHO. Clinical prediction of serious bacterial infections in young infants in developing countries. **Pediatr Infect Dis**, v.18, n.10, p. S23-S31, 1999.

## **APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

### **Pesquisa de Seps Neonatal Precoce**

Eu,.....responsável pelo(a) menor  
....., concordo que ele(a) participe da pesquisa sobre Seps Neonatal Precoce em Prematuros, realizada nessa maternidade, no município de João Pessoa – PB.

A pesquisa tem como objetivo, através dos dados coletados do prontuário, propor um modelo para diagnóstico da Seps Neonatal Precoce em Prematuros. Por se tratar de doença grave, trará benefícios, pois com o diagnóstico efetuado mais rapidamente as crianças irão se beneficiar do tratamento instituído precocemente.

Seguindo a rotina do serviço, as crianças serão examinadas, realizados exames (coleta de sangue e realização de radiografia de tórax) para confirmação da seps neonatal e receberão tratamento adequado.

Ainda concordo com a utilização dos dados do pré-natal através de questionário por mim respondido e os da criança para uma posterior publicação. Estando assegurada a privacidade de todas as informações colhidas.

Tenho a liberdade de retirar o meu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização alguma e sem prejuízo aos cuidados da criança.

João Pessoa, ..... de ..... de 200.....

---

Responsável (assinatura ou impressão digital)

Pesquisadora: Liane Carvalho Viana

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley / UFPB. Comitê de Ética em Pesquisa - 4º andar. Campus Universitário I. Castelo Branco. João Pessoa – PB. CEP: 58059-900. Fone: (83) 32167302 / (83) 9928.0487

## APÊNDICE B – Formulário com dados do nascimento

### DADOS DE NASCIMENTO

Prontuário N° \_\_\_\_\_

Mãe: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

**Antecedentes Pessoais:**

|                                     |                                           |
|-------------------------------------|-------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> HAS        | <input type="checkbox"/> Cirurgias        |
| <input type="checkbox"/> Diabetes   | <input type="checkbox"/> Cardiopatia      |
| <input type="checkbox"/> Etilismo   | <input type="checkbox"/> Dist. Coagulação |
| <input type="checkbox"/> Convulsões | <input type="checkbox"/> Dist. Endócrino  |
| <input type="checkbox"/> Transfusão | <input type="checkbox"/> Medicamentos     |
| <input type="checkbox"/> Drogas     | <input type="checkbox"/> Tabagismo        |

**Antecedentes Obstétricos:**

|                          |                    |
|--------------------------|--------------------|
| Gestações: _____         | Abortos: _____     |
| Partos Normais: _____    | Espontâneos: _____ |
| Partos Cirúrgicos: _____ | Provocados: _____  |
| Nascidos Vivos: _____    |                    |
| Natimortos: _____        |                    |

Outros: \_\_\_\_\_

**Gestação Atual:**

|                                                                 |                     |                                                           |            |                                     |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------|------------|-------------------------------------|
| DUM: ____/____/____                                             | Pré-Natal           | Abortivos                                                 | TS: _____  | VDRL: _____                         |
| DPP: ____/____/____                                             | Nº consultas: _____ | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não | Coombs     | HIV: _____                          |
| <input type="checkbox"/> única <input type="checkbox"/> gemelar | Local: _____        | Qual: _____                                               | ind: _____ | <input type="checkbox"/> Irradiação |

| Patologias                              | Trat./Mês | Curado S/N |
|-----------------------------------------|-----------|------------|
| <input type="checkbox"/> DHEG           |           |            |
| <input type="checkbox"/> ITU            |           |            |
| <input type="checkbox"/> Anemia         |           |            |
| <input type="checkbox"/> Hemorragia     |           |            |
| <input type="checkbox"/> TORCHS         |           |            |
| <input type="checkbox"/> Corrimento     |           |            |
| <input type="checkbox"/> Febre          |           |            |
| <input type="checkbox"/> Diabetes gest. |           |            |

| Drogas       | Tipo | Data | Nº doses |
|--------------|------|------|----------|
| Antibióticos |      |      |          |
| Corticóide   |      |      |          |
| Outras       |      |      |          |

Outras patologias e drogas na gestação:

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |

**DADOS DO NASCIMENTO**

|                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------|
| Data: ____/____/____                                                         |
| Hora: _____                                                                  |
| Parto: _____                                                                 |
| Indicação: _____                                                             |
| Apresentação: _____                                                          |
| Anestesia: <input type="checkbox"/> raqui <input type="checkbox"/> peridural |
| <input type="checkbox"/> geral <input type="checkbox"/> local                |

|                                                           |
|-----------------------------------------------------------|
| Bolsa rota                                                |
| <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Data: ____/____/____                                      |
| Hora: _____                                               |
| TBR: _____                                                |

|                                           |                                        |
|-------------------------------------------|----------------------------------------|
| Líquido Amniótico                         |                                        |
| <input type="checkbox"/> Claro            | <input type="checkbox"/> Fétido        |
| <input type="checkbox"/> Grumos           | <input type="checkbox"/> Purulento     |
| <input type="checkbox"/> Meconial Fluido  | <input type="checkbox"/> Sanguinolento |
| <input type="checkbox"/> Meconial Espesso | <input type="checkbox"/> Oligodrâmnio  |
| <input type="checkbox"/> Quente           | <input type="checkbox"/> Polidrâmnio   |

|           |                                   |                                      |
|-----------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Placenta: | <input type="checkbox"/> normal   | <input type="checkbox"/> pequena     |
|           | <input type="checkbox"/> volumosa | <input type="checkbox"/> calcificada |

|                  |                                            |                                            |
|------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Cordão umbilical | <input type="checkbox"/> 2 arts e uma veia | <input type="checkbox"/> nó                |
|                  | <input type="checkbox"/> curto             | <input type="checkbox"/> 1 art. E uma veia |
|                  |                                            | <input type="checkbox"/> circular          |

| Polegar Direito Materno                                                 | Pé Direito do RN |
|-------------------------------------------------------------------------|------------------|
|                                                                         |                  |
| MÃE: VDRL do parto: _____ Classificação sanguínea: Mãe: _____ RN: _____ |                  |

Idade Gestacional: \_\_\_\_\_ ☐ Capurro ☐ DUM ☐ USG      Apgar: 1' \_\_\_\_\_ 5' \_\_\_\_\_ 10' \_\_\_\_\_

Manobras de Reanimação: ☐ AVAS ☐ Estimulo tátil ☐ O<sub>2</sub> Inalatório ☐ VPP + Máscara ☐ VPP + TOT,  
nº \_\_\_\_\_ ☐ MCE ☐ Lavagem Gastrica .Secreção \_\_\_\_\_  
☐ Drogas: \_\_\_\_\_  
Peso: \_\_\_\_\_ g Est.: \_\_\_\_\_ cm PC: \_\_\_\_\_ cm PT: \_\_\_\_\_ cm PA: \_\_\_\_\_ cm Cor: \_\_\_\_\_

## Exame Físico

Estado geral: ☐ bom ☐ regular ☐ grave ☐ gravíssimo  
 Sucção: ☐ ausente ☐ fraca ☐ presente  
 Olhos: ☐ normais ☐ anormais \_\_\_\_\_  
 Narinas: ☐ púrpúrias ☐ anormais \_\_\_\_\_  
 Batimento de asas do nariz: ☐ não ☐ sim  
 Boca: ☐ palato íntegro ☐ anormal \_\_\_\_\_  
 Orelhas: ☐ normais ☐ anormais \_\_\_\_\_  
 Gemência: ☐ não ☐ sim  
 Retração esternal: ☐ não ☐ sim  
 Retração intercostal: ☐ não ☐ sim  
 Retração subcostal: ☐ não ☐ sim  
 Cianose central: ☐ não ☐ sim  
 AP: \_\_\_\_\_  
 Apnéia: ☐ não ☐ sim  
 ACV: \_\_\_\_\_  
 Pulsos femurais \_\_\_\_\_  
 Distensão abdominal: ☐ não ☐ sim  
 Hepatomegalia: ☐ não ☐ sim, \_\_\_\_\_ cm  
 Esplenomegalia: ☐ não ☐ sim, \_\_\_\_\_ cm  
 Rim ☐ não palpável ☐ palpável lado \_\_\_\_\_  
 Má perfusão periférica: ☐ não ☐ sim  
 Tempo de enchimento capilar: \_\_\_\_\_ segundos  
 Ânus: ☐ não perfurado ☐ perfurado  
 Genitália:  
 Outros achados:

Palidez: ☐ não ☐ sim  
 Icterícia: ☐ não ☐ sim, zona \_\_\_\_, \_\_\_\_/4+  
 Esclerema: ☐ não ☐ sim  
 Edema: ☐ não ☐ sim  
 Pele (lesões): ☐ não ☐ sim \_\_\_\_\_  
 Petéquias ou equimoses: ☐ não ☐ sim  
 Sangramento digestivo: ☐ não ☐ sim  
 Sangramento pulmonar: ☐ não ☐ sim  
 Hipotonia: ☐ não ☐ sim  
 Hipoatividade: ☐ não ☐ sim  
 Letargia: ☐ não ☐ sim  
 Convulsões: ☐ não ☐ sim, tipo \_\_\_\_\_  
 Espasmos: ☐ não ☐ sim  
 Fontanela anterior abaulada: ☐ não ☐ sim  
 Suturas: ☐ normais ☐ cavalgadas ☐ diástase  
 Clavículas: ☐ íntegras ☐ crepitação  
 Ortolani: ☐ negativo ☐ positivo, lado \_\_\_\_\_  
 Tocotraumatismo:

Malformações:

## HD E CONDOTA

## ENFERMAGEM

Pediatra (assinatura e Carimbo)



63 Anos de **dedicação a vida**

**PREFEITURA MUNICIPAL DE JOAO PESSOA**  
**INSTITUTO CÂNDIDA VARGAS**



Secretaria Municipal de Saúde

**EVOLUÇÃO BERÇÁRIO**

RN \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

|                     |            |                     |                    |           |
|---------------------|------------|---------------------|--------------------|-----------|
| Idade : _____ dias  | IGC: _____ | Peso ontem: _____ g | Peso hoje: _____ g | TS: _____ |
| Diagnósticos: _____ |            |                     |                    |           |

|                                                          |                  |             |                                                                 |
|----------------------------------------------------------|------------------|-------------|-----------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Hood (FiO2: _____ )             | Dextro: _____    | HV: _____   | VIG: _____                                                      |
| <input type="checkbox"/> CPAP (FiO2: _____ , PEEP _____) | Evacuação: _____ | VO: _____   | Foto: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim |
| Sat. Oxímetro: _____                                     | Diurese: _____   | SOG : _____ | ATB: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim  |
| Medicações em uso: _____                                 |                  |             |                                                                 |

|           |
|-----------|
| EVOLUÇÃO: |
|-----------|

|                                                                                                           |                                                                                                     |                                                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Estado geral: <input type="checkbox"/> bom                                                                | <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> grave <input type="checkbox"/> gravíssimo | Palidez: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                               |
| Sucção: <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> fraca <input type="checkbox"/> presente | <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> grave <input type="checkbox"/> gravíssimo | Icterícia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, zona _____/4+              |
| Gemência: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                       | <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> fraca <input type="checkbox"/> presente   | Esclerema: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim _____/4+                    |
| Batimento de asas do nariz: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                     | <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                           | Edema: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim _____/4+                        |
| Retração esternal: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                              | <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                           | Pele (moteada ou reticulada): <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim          |
| Retração intercostal: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                           | <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                           | Petéquias ou equimoses: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim,               |
| Retração subcostal: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                             | <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                           | Sangramento digestivo: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                 |
| Cianose central: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                | <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                           | Sangramento pulmonar: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                  |
| AP: _____ ipm                                                                                             | FR: _____                                                                                           | Hipotonia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                             |
| Apnéia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                                         | FC: _____                                                                                           | Hipertonia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                            |
| ACV: _____ bpm                                                                                            |                                                                                                     | Hipoatividade: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                         |
| Distensão abdominal: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                            |                                                                                                     | Letargia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                              |
| Hepatomegalia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, _____ cm                        |                                                                                                     | Irritabilidade: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                        |
| Esplenomegalia: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, _____ cm                       |                                                                                                     | Convulsões: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, tipo _____                |
| ânus: <input type="checkbox"/> não perfurado <input type="checkbox"/> perfurado                           |                                                                                                     | Espasmos: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                              |
| Má perfusão periférica: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim                         |                                                                                                     | Fontanela anterior abaulada: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim           |
| Tempo enchimento capilar: _____ seg                                                                       |                                                                                                     | Otolani: <input type="checkbox"/> negativo <input type="checkbox"/> positivo, lado _____         |
|                                                                                                           |                                                                                                     | Sangramento em local de punção venosa: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim |

[illegible]



|                                    |                              |                                        |                                 |                              |                                          |
|------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------------------|
| Retração subcostal:                | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           | Sangramento pulmonar:           | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Cianose central:                   | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           | Hemorragia intracraniana:       | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| AR: _____                          |                              |                                        | Sangramento local punção venosa | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Frequência respiratória: _____ ipm |                              |                                        | Hipotonia:                      | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| ACV: _____                         |                              |                                        | Hipertonia:                     | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Frequência cardíaca: _____ bpm     |                              |                                        | Hipoatividade:                  | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| PA: _____                          |                              |                                        | Letargia:                       | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Pulsos Centrais: _____             |                              |                                        | Irritabilidade:                 | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Apnéia:                            | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           | Convulsões:                     | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim, tipo _____ |
| Distensão abdominal:               | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           | Espasmos:                       | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Vômitos:                           | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           | Fontanela anterior              | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Resíduo gástrico:                  | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           | abaulada:                       | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim             |
| Hepatomegalia:                     | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim, _____ cm | Malformação:                    | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim, _____      |
| Esplenomegalia                     | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim, _____ cm |                                 |                              |                                          |
| Má perfusão periférica:            | <input type="checkbox"/> não | <input type="checkbox"/> sim           |                                 |                              |                                          |

[illegible][illegible]

**APÊNDICE E – Manual com definição e categorização das variáveis a serem pesquisadas na anamnese e exame físico**

|                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                            |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Idade materna                      | Em anos no momento do parto                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Variável contínua                                                                                                          |
| Escolaridade materna               | Anos completos em estudos relatados pela mãe                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Variável contínua                                                                                                          |
| Número de consultas de pré-natal   | Número de consultas realizadas durante o pré-natal relato da mãe ou verificação do cartão do pré-natal                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Variável contínua                                                                                                          |
| Infecção do Trato Urinário (I T U) | <b>Critério 1:</b> Presença de pelo menos um dos seguintes sinais e sintomas sem outra causa conhecida: febre(>38° C), urgência miccional, polaciúria, disúria ou dor suprapúbica e urocultura positiva com $\geq 100.000$ microorganismos/m com no máximo duas espécies isolados).<br><b>Critério 2:</b> Presença de pelo menos dois dos seguintes sinais e sintomas sem outra causa conhecida: febre(>38° C), urgência miccional, polaciúria, disúria ou dor suprapúbica e pelo um dos seguintes: Piúria ( $\geq 10$ piócitos/ mm <sup>3</sup> ou $\geq 3$ piócitos por campo de maior aumento de urina não centrifugada), diagnóstico de ITU pelo médico, iniciada terapia antimicrobiana para ITU por médico (RICHTMANN 2005) | 0 = ausente ou tratada antes do parto<br><br>1 = presente (não tratada ou iniciado o tratamento até 3 dias antes do parto) |
| Febre materna                      | Referida pela mãe ou temperatura axilar medida e $\geq 38^0$ C, em pelo menos uma ocasião em 24 h antes do parto                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Variável contínua                                                                                                          |
| Corrimento vaginal                 | Presença de secreção vaginal relatado pela mãe ou conferido pelo prontuário médico                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 0 = ausente<br>1 = presente                                                                                                |
| Herpes genital                     | Lesões em forma de vesícula ou úlceras dolorosas em região genital aferido no prontuário materno                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0 = ausente<br>1 = presente                                                                                                |
| Papiloma vírus                     | Lesões em forma de verrugas em região genital ou anogenital aferido no prontuário materno                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 0 = ausente<br>1 = presente                                                                                                |
| Corioamnionite                     | Dados do parto aferido no prontuário materno                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 0 = ausente<br>1 = presente                                                                                                |
| Tempo de ruptura das membranas     | Tempo decorrido entre a perda de líquido amniótico e o parto                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Variável contínua                                                                                                          |
| Odor do líquido amniótico          | Avaliação de obstetra ou profissional que presta assistência ao RN na sala de parto                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 0 = normal<br>1 = fétido                                                                                                   |
| Aspecto do líquido amniótico       | Avaliação de obstetra ou profissional que presta assistência ao RN na sala de parto                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 0 = normal<br>1 = purulento                                                                                                |
| <b>DADOS DO RECÉM-NASCIDO</b>      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                            |
| Idade gestacional                  | Avaliada pela data da última menstruação e USG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Variável contínua                                                                                                          |
| Peso ao nascer                     | Avaliado em gramas na sala de parto ou à admissão na UTI ou berçário se essa admissão ocorreu logo após o nascimento                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Variável contínua                                                                                                          |
| Temperatura axilar                 | Medida em °C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Variável contínua                                                                                                          |
| Apnéia                             | Pausa respiratória por tempo maior que 20 segundos com queda da FC observada por estetoscópio para menos de 100 bpm                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 0 = ausente<br>1 = presente                                                                                                |
| Frequência respiratória            | Movimentos respiratórios contados em um minuto com o RN em repouso (variável contínua)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Variável contínua                                                                                                          |
| Frequência cardíaca                | Batimentos cardíacos contados em um minuto com o RN em repouso (variável contínua)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Variável contínua                                                                                                          |

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                             |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Gemência                              | Som produzido na expiração ouvido com ou sem estetoscópio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Retração esternal                     | Depressão observada ao nível do Esterno em todo tempo respiratório                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Retração subcostal                    | Depressão observada ao nível da parede torácica inferior em todo tempo respiratório                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Batimento de asas do nariz            | Abertura e fechamento das fossas nasais observada em cada respiração                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Cianose                               | Coloração azulada de pele e mucosa, incluindo a língua                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Hipotonia                             | Ao levantar o tronco do RN pelos braços a cabeça do mesmo ficar totalmente defletida; ou durante a inspeção observar que todos os segmentos do corpo da criança estão em completo contato com o leito                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Letargia                              | RN não reage ao ser manuseado durante o exame físico ou procedimentos como punção venosa ou realização do asseio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Irritabilidade                        | Choro persistente na ausência de manipulação por exame físico ou procedimentos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Convulsões                            | Definidas em cinco tipos: focais, clônicas, multifocais, tônicas, mioclônicas, sutis.<br>1. focais: contrações rítmicas de grupos musculares sobretudo de membros e face;<br>2. clônicas: multifocais contrações rítmicas de vários musculares simultaneamente;<br>3. tônicas: postura rígida dos membros e tronco, podendo ser acompanhada por desvio fixo dos olhos;<br>4. mioclônicas: espasmos breves e focais ou generalizados dos membros ou corpo, que tendem a envolver os grupos musculares distais;<br>5. sutis: movimentos de mastigação, salivação excessiva, alterações da frequência respiratória incluindo apnéia, piscar, nistagmo, movimentos de pedalagem e alterações da cor da pele. | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Distensão abdominal                   | Aumento do volume abdominal visível e/ou palpável                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Vômitos                               | Expulsão violenta do conteúdo gástrico pela boca                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Resíduo gástrico                      | Volume líquido aspirado por sonda gástrica antes da dieta                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Variável contínua           |
| Hepatomegalia                         | Fígado palpável a mais de 2 cm do rebordo costal direito com RN em repouso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Variável contínua           |
| Esplenomegalia                        | Baço palpável a mais de 1 cm do rebordo costal esquerdo com RN em repouso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Variável contínua           |
| Sangramento digestivo                 | Presença de sangue vivo visível por sonda gástrica ou nas fezes do RN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Sangramento pulmonar                  | Presença de sangue vivo visível por cânula traqueal em RN com intubação traqueal                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Sangramento em local de punção venosa | Evidenciado por equipe de enfermagem ou médico ao ser realizada punção venosa do RN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 0 = ausente<br>1 = presente |
| Petéquias ou equimoses                | Formações arredondadas ou em placas de cor vermelha ou violácea, que não desaparecem sob digitopressão                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0 = ausente<br>1 = presente |
| CIVD                                  | Petéquias e / ou equimoses não relacionadas com apresentação do parto ou tocotraumatismo, sangramento digestivo, pulmonar ou em local de punção venosa em RN com comprometimento do estado geral                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 0 = ausente<br>1 = presente |

|                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                 |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Palidez                  | Coloração branca de pele e/ou mucosas, visualizar em região plantar e / ou palmar e nos lábios                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 0 = ausente<br>1 = presente     |
| Pele fria e sudoréica    | Avaliada pelo toque da pele                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 0 = ausente<br>1 = presente     |
| Tempo Enchimento Capilar | Avaliado através de compressão digital ao nível do osso Esterno por três segundos e ao descomprimir observar o tempo em segundos em que ocorreu a recoloração.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Variável contínua               |
| Icterícia                | Cor amarela da pele, visível com ou sem necessidade de digito pressão e / ou visível nas escleróticas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 0 = ausente<br>1 = presente     |
| Esclerema                | Constatado pela palpação endurecimento da pele que não permite seu pinçamento, melhor detectada em membros inferiores                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 0 = ausente<br>1 = presente     |
| RN que não vai bem       | Cor da pele de rosada passou a ser cianótica ou moteada; aumento do número de apnéias e bradicardia; necessidade de mudança na oxigenioterapia (halo de oxigênio para Pressão positiva contínua em vias aéreas ou para ventilação mecânica não invasiva ou ventilação mecânica invasiva, Pressão positiva contínua em vias aéreas para ventilação mecânica não invasiva ou ventilação mecânica invasiva, ventilação mecânica não invasiva para ventilação mecânica invasiva) ou aumento dos parâmetros da ventilação: aumento da concentração de oxigênio, pressão inspiratória, pressão expiratória, frequência respiratória, fluxo ou tempo inspiratório | 0 = ausente<br><br>1 = presente |

- Coletar sangue para exames (hemograma, PCR e hemocultura) em todo RN com suspeita de infecção, sempre que possível antes do início de antibióticos;
- Seguir cuidados de precauções padrão e anti-séptico padronizado para coleta de hemocultura: utilizar luvas de procedimento estéril e fazer a anti-sepsia da pele com PVPI;
- Puncionar vaso periférico, artéria ou veia (não colher sangue de vasos umbilicais e nem da veia Femural);
- Coletar de 3,0 ml de sangue (1,0 ml para hemograma, 1,0 ml para PCR e 1,0 ml para hemocultura).

#### **Norma para coleta de hemocultura**

(Segundo Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para controle de infecção hospitalar: módulo 1 / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, BRASIL 2001)

- Preparar material para coleta da hemocultura (frasco com o meio de cultura, seringa, duas agulhas, garrote);
- Colocar máscara;
- Lavar as mãos com água e Clorexidine degermante 2% ou PVPI degermante 10%;
- Realizar desinfecção do garrote e do frasco da hemocultura com álcool a 70%;
- Lavar as mãos com água e sabão (caso o RN esteja em incubadora lavar as mãos e o antebraço);
- Calçar luva estéril;
- Executar limpeza do local a ser puncionado em movimentos circulares e centrífugos, usando gaze estéril umedecida com álcool a 70%;
- Passar PVPI alcoólico a 10% em movimentos circulares e centrífugos e deixar secar por um minuto sem tocar no local;
- Puncionar o local selecionado e desinfetado e retirar 1 ml de sangue;
- Trocar a agulha da seringa por outra e colocar o sangue coletado dentro do frasco com o meio de cultura;
- Retirar o excesso do PVPI alcoólico a 10% do local da coleta com álcool a 70% e em seguida passar soro fisiológico 0,9%;
- Não refrigerar o frasco e enviar a amostra à temperatura ambiente até no máximo duas horas ao local a ser colocado para semeio ou em estufa bacteriológica.

|                                         |                                            |                               |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------|
| Formulário                              |                                            | <input type="text"/>          |
| Nome da mãe                             |                                            |                               |
| Idade materna (anos completos)          | Variável contínua                          | Imae <input type="text"/>     |
| Escolaridade (anos completos de estudo) | Variável contínua                          | Emae <input type="text"/>     |
| Número de consultas do pré-natal        | Variável contínua                          | Ncons <input type="text"/>    |
| Infecção materna                        | (0) ausente (1) presente (9) sem dados     | Infmat <input type="text"/>   |
| Tempo de ruptura de membranas           | Variável contínua                          | Ruprema <input type="text"/>  |
| Tempo ruptura de membranas codificada   | (0)< 18 horas (1) ≥ 18 horas (9) sem dados | Rupcod <input type="text"/>   |
| Odor do líquido amniótico               | (0) normal (1) fétido (9) sem dados        | Odorla <input type="text"/>   |
| Aspecto do líquido amniótico            | (0) normal (1) purulento (9) sem dados     | Aspliq <input type="text"/>   |
| Tipo de parto                           | (0) cirúrgico (1) vaginal                  | Part <input type="text"/>     |
| Sexo                                    | (0) feminino (1) masculino                 | Sex <input type="text"/>      |
| Idade Gestacional (semana)              | Variável contínua                          | Idgest <input type="text"/>   |
| Peso ao nascer (gramas)                 | Variável contínua                          | Peso <input type="text"/>     |
| Instabilidade térmica                   | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Tax <input type="text"/>      |
| Gemência                                | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Gem <input type="text"/>      |
| Batimento de asas do nariz              | (0) não (1) sim (9) sem dados              | BAN <input type="text"/>      |
| Retração subcostal e/ou Eterna          | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Retra <input type="text"/>    |
| Frequência respiratória                 | Variável contínua                          | FR <input type="text"/>       |
| Frequência respiratória codificada      | (0) ≤ 60 ipm (1) > 60 ipm (9) sem dados    | FRcod <input type="text"/>    |
| Apnéia                                  | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Apn <input type="text"/>      |
| Cianose central                         | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Cianose <input type="text"/>  |
| Palidez                                 | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Pal <input type="text"/>      |
| Alteração de perfusão                   | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Perf <input type="text"/>     |
| Icterícia idiopática                    | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Ict <input type="text"/>      |
| Esclerema                               | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Escler <input type="text"/>   |
| CIVD                                    | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Petequi <input type="text"/>  |
| Vômitos                                 | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Vom <input type="text"/>      |
| Resíduo gástrico                        | (0) não (1) sim (9) sem dados              | RG <input type="text"/>       |
| Hepatomegalia                           | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Hepatom <input type="text"/>  |
| Esplenomegalia                          | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Esplenom <input type="text"/> |
| Distensão abdominal                     | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Distabd <input type="text"/>  |
| Hipotonia                               | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Hipot <input type="text"/>    |
| Letargia                                | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Letarg <input type="text"/>   |
| Irritabilidade                          | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Irritab <input type="text"/>  |
| Convulsões                              | (0) não (1) sim (9) sem dados              | Conv <input type="text"/>     |

|                                 |                                             |                                 |
|---------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------|
| RN não vai bem                  | (0) não (1) sim (9) sem dados               | RNnvb <input type="text"/>      |
| Sepse literatura                | (0) não (1) sim                             | Sepse <input type="text"/>      |
| Sepse Especialista 1            | (0) não (1) sim                             | Espec1 <input type="text"/>     |
| Sepse Especialista 2            | (0) não (1) sim                             | Espec2 <input type="text"/>     |
| Sepse Especialista 3            | (0) não (1) sim (9) sem dados               | Espec3 <input type="text"/>     |
| Sepse concordância Especialista | (0) não (1) sim                             | Concespec <input type="text"/>  |
| Escore                          | Variável contínua                           | Escore <input type="text"/>     |
| Escore $\geq 1$                 | (0) não (1) sim                             | pontcorte1 <input type="text"/> |
| Escore $\geq 2$                 | (0) não (1) sim                             | Pontcorte2 <input type="text"/> |
| Escore $\geq 3$                 | (0) não (1) sim                             | Pontcorte3 <input type="text"/> |
| Hemocultura                     | (0) negativa (1) positiva (9) não realizada | Hemoc <input type="text"/>      |
| Bactéria                        | Nome                                        |                                 |
| Uso antibióticos RN             | (0) não (1) sim                             | Antib <input type="text"/>      |

# **APÊNDICE H – Formulário de avaliação pelos especialistas dos dados dos recém-nascidos participantes do estudo**

107

Formulário  Data nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ hora nascimento: \_\_\_\_: \_\_\_\_ h  
**DADOS MATERNOS:**

|                                         |                                                                                                                          |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Idade (anos completos)                  |                                                                                                                          |
| Escolaridade (anos completos de estudo) |                                                                                                                          |
| Número de consultas do pré-natal        |                                                                                                                          |
| ITU                                     | (0) ausente (1) presente, tratada antes do parto<br>(2) não tratada ou em tratamento na semana do parto<br>(9) sem dados |
| Diabetes gestacional                    | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| Pré-eclâmpsia ou eclâmpsia              | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| Isoimunização                           | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| Uso de corticóide                       | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| Uso de antibióticos                     | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| Corrimento vaginal                      | (0) não (1) sim, tratado<br>(2) sim, s/ tratamento (9) sem dados                                                         |
| Herpes genital ou condiloma             | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| Febre                                   | (0) não (1) sim (9) sem dados                                                                                            |
| FC ANTES DO PARTO:                      | MATERNA FETAL                                                                                                            |
| Tipagem sanguínea:                      |                                                                                                                          |

## **DADOS DO PARTO:**

|                                |                                       |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Local do parto (parto séptico) | (0) hospital (1) domicílio            |
| Tempo de ruptura de membranas  | ____ horas                            |
| Odor do líquido amniótico      | (0) normal (1) fétido (9) sem dados   |
| Aspecto do líquido amniótico   | (0) normal (1) purulento (2) meconial |
| Tipo de parto                  | (0) cesáreo (1) vaginal (2) fórceps   |
| Indicação cesárea              |                                       |
| Apgar 1º e 5º minuto           | ____                                  |
| Intubação em sala de parto     | (0) não (1) sim                       |
| Cateterismo umbilical          | (0) não (1) sim                       |

## **EXAME FÍSICO:**

Sexo: (0) feminino (1) masculino Idade Gestacional: \_\_\_\_ semanas Peso ao nascer: \_\_\_\_ g

|                            | 1º DIA                               | 2º DIA      | 3º DIA      |
|----------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|
| Temperatura axilar         | ° C                                  | ° C         | ° C         |
| Estado geral               | (0) regular (1) grave (2) gravíssimo | (0) (1) (2) | (0) (1) (2) |
| Sucção                     | (0) presente (1) fraca (2) ausente   | (0) (1) (2) | (0) (1) (2) |
| Gemência                   | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |
| Batimento de asas do nariz | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |
| Retração esternal          | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |
| Retração intercostal       | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |
| Retração subcostal         | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |
| Frequência respiratória    | ____ ipm                             |             |             |
| Apnéia                     | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |
| Cianose central            | (0) não (1) sim (9) sem dados        | (0) (1) (9) | (0) (1) (9) |

|                                          |                                              |                                              |                                              |
|------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Frequência cardíaca                      | bpm                                          |                                              |                                              |
| Palidez                                  | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Pele fria / sudoréica                    | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Tempo de enchimento capilar              | _____ segundos                               |                                              |                                              |
| Esclerema                                | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Icterícia                                | (0) não (1) sim, zona _____<br>(9) sem dados | (0) não (1) sim, zona _____<br>(9) sem dados | (0) não (1) sim, zona _____<br>(9) sem dados |
| Mudança cor pele (moteada ou reticulada) | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Petéquias ou equimoses                   | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Sangramento digestivo                    | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Sangramento pulmonar                     | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Hemorragia intracraniana                 | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Sangramento local punção venosa          | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Vômitos                                  | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Resíduo gástrico                         | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Hepatomegalia                            | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Esplenomegalia                           | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Distensão abdominal                      | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Espasmos                                 | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Convulsões                               | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Hipotonia                                | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Hipoatividade                            | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Letargia                                 | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Irritabilidade                           | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |
| Fontanela anterior abaulada              | (0) não (1) sim (9) sem dados                | (0) (1) (9)                                  | (0) (1) (9)                                  |

Oxigenioterapia: ☐ não ☐ sim 1º dia \_\_\_\_\_

2º dia \_\_\_\_\_

3º dia \_\_\_\_\_

Uso de surfactante ☐ não ☐ sim, horas de vida \_\_\_\_\_

Uso de expansor de volume ☐ não ☐ sim, dia: \_\_\_\_\_

Uso de inotrópicos ☐ não ☐ sim, dia: \_\_\_\_\_

Uso de sangue ou derivados ☐ não ☐ sim, dia: \_\_\_\_\_

Evolução:

1º dia: Dieta ☐ SOG ml / 24h RG ml / 24h ☐ claro ☐ escuro ☐ bilioso ☐ VO ml / 24 h

2º dia: Dieta ☐ SOG ml / 24h RG ml / 24h ☐ claro ☐ escuro ☐ bilioso ☐ VO ml / 24 h

3º dia: Dieta ☐ SOG ml / 24h RG ml / 24h ☐ claro ☐ escuro ☐ bilioso ☐ VO ml / 24 h

1º DIA Dextros: \_\_\_\_\_

2º DIA Dextros: \_\_\_\_\_

3º DIA Dextros: \_\_\_\_\_

Intercorrências:

1º DIA \_\_\_\_\_

2º DIA \_\_\_\_\_

3º DIA \_\_\_\_\_

**Resumo dos Exames****Formulário** ☐☐☐

RN de: \_\_\_\_\_

| DATA             |  |  |  |  |  |
|------------------|--|--|--|--|--|
| Hemácias         |  |  |  |  |  |
| Hemoglobina      |  |  |  |  |  |
| Hematócrito      |  |  |  |  |  |
| Leucócitos       |  |  |  |  |  |
| Metamielócitos   |  |  |  |  |  |
| Mielócitos       |  |  |  |  |  |
| Bastões          |  |  |  |  |  |
| Segmentados      |  |  |  |  |  |
| Eosinófilos      |  |  |  |  |  |
| Basófilos        |  |  |  |  |  |
| Linfócitos       |  |  |  |  |  |
| Monócitos        |  |  |  |  |  |
| Imaturos/maduros |  |  |  |  |  |
| Plaquetas        |  |  |  |  |  |
| PCR              |  |  |  |  |  |
| Reticulócitos    |  |  |  |  |  |
| TTPA             |  |  |  |  |  |
| TS               |  |  |  |  |  |
| TC               |  |  |  |  |  |
| Fibrinogênio     |  |  |  |  |  |
| BT               |  |  |  |  |  |
| BD               |  |  |  |  |  |
| BI               |  |  |  |  |  |
| Dextrotix        |  |  |  |  |  |
| Glicemia         |  |  |  |  |  |
| Sódio            |  |  |  |  |  |
| Potássio         |  |  |  |  |  |
| Cálcio           |  |  |  |  |  |
| Magnésio         |  |  |  |  |  |
| TGO              |  |  |  |  |  |
| TGP              |  |  |  |  |  |
| Ph               |  |  |  |  |  |
| PO2              |  |  |  |  |  |
| PCO2             |  |  |  |  |  |
| HCO3             |  |  |  |  |  |
| BE               |  |  |  |  |  |
| SAT O2           |  |  |  |  |  |

Raio x Tórax: \_\_\_\_\_

VDRL: \_\_\_\_\_

LCR: \_\_\_\_\_

Seps neonatal: ☐ não ☐ sim

## APÊNDICE I - Versão em inglês do artigo enviado ao Indian Pediatrics

### Development of a Clinical Score for the Diagnosis of Early Onset Neonatal Septicemia in Premature Newborns with Low Birth Weight

**Short running title: V Score early-onset neonatal sepsis**

Liane C. Viana <sup>1</sup>

Vera Magalhães <sup>2</sup>

Ricardo A. A. Ximenes<sup>3</sup>

Constantino Giovanni C. Braga <sup>4</sup>

**Department of Tropical Medicine of Federal University of Pernambuco**

Corresponding author:

Liane Carvalho Viana

Rua Antônio Lustosa Cabral nº 15, aptº 604, Cabo Branco, João Pessoa – PB, Brasil, CEP 58045-020.

e-mail: [lianecviana@hotmail.com](mailto:lianecviana@hotmail.com)

Fax: (55) 8332167308

Fone: (55) 8332264498

Competing interest: none

Funding: none

Word count: 2370

---

1 PhD. Professor. Assistant Professor, Department of Pediatrics and Genetics of Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brazil. Author.

2 PhD. Titular Professor, Department of Tropical Medicine of Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil. Co-author.

3 PhD. Professor, CNPq Researcher, Department of Tropical Medicine of Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil. Co-author.

4 PhD. Professor, Department of Pediatrics and Genetics of Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brazil. Co-author.

## ABSTRACT

**Objective:** To develop a clinical score to diagnose early-onset neonatal sepsis (EONS) in low birth weight (LBW) premature newborns. **Design:** case-control study. **Setting:** Nursery and Neonatal Intensive Care Unit (NICU). **Methods:** Premature infants, weighing 1000-2499g, admitted at the Nursery and NICU of the Instituto Cândida Vargas (ICV), northeast Brazil, between April-2006 and May-2008, at risk or suspected of infection, were followed for the first 72h of life. The *odds ratio* (OR) and 95% confidence interval (95%CI) of each clinical sign, were calculated and those with Fisher's exact test p-value < 0.25, were subjected to logistic regression analysis to develop the score. The clinical variables which composed the final model were chosen considering the p-value < 0.05. The cut-offs score were given by the value of the OR and its 95%CI. **Results:** The sample was composed of 284 newborns, 15 were excluded because they had no laboratory data. Sixty-seven (23.6%) of them had the diagnosis of EONS by the agreement among experts. Thirteen clinical signs were entered into a logistic regression program. The result was a score with five variables, which were scored in this way: apnea, poor perfusion and gastric residuals, with minimal 95%CI higher than four, were scored two, and hypotonia and thermal instability with low values were scored one. **Conclusions:** A clinical score for diagnosis of EONS in LBW premature newborns was done. It has easy applicability; it is not invasive and it has no cost.

**Keywords:** diagnosis, sepsis, premature newborns, low birth weight, score.

## Introduction

The diagnosis of EONS represents a challenge in premature newborns, because the first clinical manifestations may be confused with the own prematurity, and to delay the diagnosis increases the possibility of sequela.<sup>1,2</sup>

In developed countries, studies of the accuracy of the clinical examination in detecting serious bacterial illness in infants younger than three months of age have given conflicting results. These studies were limited because of the small number of patients with the illness who could be enrolled, making it difficult to use logistic regression model to detect the relationship between clinical variables and diagnoses.<sup>3</sup>

The logistic regression is a technique that has been used to determine the independent degree of association with variables and the outcome to compose models.<sup>4,5-9</sup> There is a paucity of data regarding predictive values and likelihood ratios (LR) of clinical signs in

multivariate model of neonatal sepsis and no score for diagnosis of EONS in premature newborns with LBW.<sup>10</sup> To analyze the clinical utility of diagnostic tests for neonatal bacterial infection is recommend the use of the LR in its methodology.<sup>11,12</sup>

The difficulty to “rule out sepsis” results in overtreatment. The blood culture remains the “gold standard” for the diagnosis, but it has low sensitivity, the decision to start treatment may have to be taken before its result and is widely accepted that is insufficient for a fast and reliable diagnosis of EONS.<sup>1-3</sup>

Because of the difficult of bacteriology diagnoses the use of an expert panel, that values the clinician’s personal experience to define suspects of infection, with negative blood cultures is being used.<sup>4,13,14</sup>

The purpose of this study was to develop a score for the diagnosis of EONS in premature newborns with LBW, using logistic regression analysis. The score must have practical applicability to improve decision about antibiotic therapy, while the investigation is carried on.

### **Patients and period**

The subjects were premature newborns of gestational age (GA) ranging from 29 – 36.6 weeks defined by the last menstruation period and/or obstetric ultrasonography, weighing 1000–2499g, admitted to the nursery and/or NICU of the ICV, from April/2006 to May/2008. All newborns had at least one of the following risk factors to infection: premature rupture of membranes  $\geq 18$ h, chorioamnionitis, non-treated maternal urinary tract infection, maternal fever  $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ , fetid amniotic fluid;<sup>15</sup> or suspicion of infection and were investigated by the neonatologists with leukocyte count and/or blood culture.<sup>13</sup> The premature newborns who were included in the research were followed prospectively until 72h of life, to detect EONS.<sup>1,2,5</sup> The exclusion criteria were: major congenital malformation and neonates investigated or treated as having congenital infections, like cytomegalovirus, rubeola, syphilis and HIV, and not having any laboratory data.<sup>4,5</sup>

### **Clinical protocol**

Pilot project was done to standardize the forms to contain all study variables which were adopted like patients’ records in the hospital; to train and give to each neonatologist an instruction manual containing definitions of the variables with relevance to sepsis diagnosis;

to train the independent expert panel in how to use the form; to improve the forms with experts suggestions, to facilitate the classification of the cases, to obtain data to calculate the sample size.

The researcher collected from the standardized forms clinical, laboratory, radiological and microbiological data from birth to 72h of life. These data were available in the forms given to the experts.

The clinical signs investigated in all infants every 24h were: respiratory rate  $> 60/\text{min}$ , severe chest retraction, grunting, apnea, central cyanosis, and flaring (the signs of respiratory distress should persist for at least 24h in use of oxygen), temperature instability (axillary temperature  $< 36^{\circ}\text{C}$  or  $> 37.5^{\circ}\text{C}$ ), abdominal distension, gastric residuals (prefeed aspirates  $> 20\%$  of the total volume to be offered within 24h), hepatomegaly, idiopathic jaundice, poor perfusion (pallor, cold or sweat skin, prolonged capillary filling time  $> 3\text{s}$ , use of volume resuscitation or vasopressor therapy), hypotonia, convulsion, lethargy, irritability, disseminated intravascular coagulation, not looking well newborn (change in skin color like marbling, bradycardia, increasing apnea, need of reanimation with positive pressure ventilation or increase of oxygen concentration after a previous fair clinical condition), sclerema.<sup>15,16</sup>

The exams: Leukocyte and differential count, C reactive protein (CRP) and blood culture; were collected in a standardized way, for the first 72h of life, as indicated by the attending neonatologists. Leukocyte and differential count was done in automated SYSMEX KX21N and C reactive protein CRP was measured by using latex method BIOCLIN, with cut-off point value  $< 6\text{mg/L}$ . The x-ray exams results were done by radiologist. Blood culture were done by the kit Hemoprov I, T.S.B / S.P.S /  $\text{CO}_2$  and vacuum.

### **Definition of sepsis**

EONS was defined by the agreement of the diagnosis by experts. The decision in this study to use this reference pattern to the clinical diagnoses of the disease occurs because there is no consensus about this diagnosis in preterm infants without positive blood culture. And in accordance with the literature, expert panel provided with all data from the patients records deemed to be relevant to adjudicate cases of a disease.<sup>4,13,14,17</sup>

The forms with data of all newborns studied were copy and given to two experts. They analyzed and defined in an independent and blinded way to the judgment of each other. They had not been informed about the diagnosis of the neonatologists about the decision of

antibiotics use. The disagreed cases were defined by a third expert. Agreement between the two experts was assessed by the Kappa measurement ( $\kappa$ ) of agreement.<sup>14,17,18</sup>

### **Data analysis**

The data were stored with double entrance in a database of the statistical package Epi Info 6.0 version and analyzed by an SPSS 13.0 version.

### **Sample size**

The sample size calculation was done in the Epi Info 6.0 Program, case:control (1:3), 95% confidence interval (95%CI), power 0.80. A univariate analyze about the prevalence of the clinical signs presents in premature newborn with sepsis, like described in Silveira & Procianoy (2004)<sup>15</sup> was done in the pilot study. The *odds ratio* (OR) and the frequency of each clinical variable present in premature newborns without EONS was done. The number of cases calculated in basis of abdominal distension was 67 and for controls were 201.

### **Score development**

The OR and 95%CI of each clinical sign present in premature newborns with and without the diagnosis of EONS by the agreement among experts were calculated in a contingent table 2x2.<sup>5,6,8</sup> The variables with Fisher's exact test p-value < 0.25 were subjected to logistic regression analysis method stepwise forward likelihood ratio.<sup>4,5-7</sup> The variables to compose the final model were chosen considering the p-value < 0.05.<sup>6,8</sup> The points were given by the values of multivariate OR ( $\beta$  coefficient) and its 95%CI.<sup>6,8</sup>

The study was approved by ethics committee. A signed consent was obtained from a parent or caregiver.

### **Results**

There were 284 newborns evaluated; 15 were excluded because they did not have any laboratory data. A total of 269 premature newborns prospectively enrolled completed the study and 67 (23.6%) of them had the diagnosis of EONS by the experts. In the general

characteristics of the study group, there was difference in the number of prenatal visits, gestational age and birth weight, with lower values in the group with EONS (Table I).

Thirteen variables were included in logistic regression analysis (Table II). The final score was composed by five variables: apnea, poor perfusion, gastric residuals, hypotonia and thermal instability. The variables apnea, poor perfusion, gastric residuals with values of minimum 95%CI > four were scored two and low values were scored one (Table III).

The kappa value of the agreement between the experts was 0.64 (Table IV). The third expert defined 36 (12.7%) of disagreed cases.

## Discussion

The frequency of EONS observed in this study, by the agreement of the experts, was 23.6%, which is in accord with the frequency of clinical sepsis of the literature that varies with GA and birth weight (BW) between 10-30.7%.<sup>19,20</sup> There was observed a high frequency in EONS in the group with lower number of prenatal visit, GA and BW, in correspondence with the literature.<sup>1,15,16</sup>

This study adds information, as the literature has no clinical specific criterion to diagnose EONS in LBW premature newborns. The variables analyzed to compose the score were defined according to prematurity peculiarities, e.g, only severe chest retraction persisting for more than 24h in oxygen use was considered, and so, pulmonary adaptation syndrome was excluded.

A model of logistic regression analysis is considered reliable when the number of patients with the outcomes is 10 to 20 times the number of variables of the model.<sup>5</sup> In this study the model was composed of five variables and 67 infants had the diagnosis of EONS, so it may be considered statistically reliable.

The variable “not looking well” is defined as a blend of the variables that are present in other categories of signs like respiratory distress and poor perfusion.<sup>15</sup> These variables are detected during the evolution of the disease. As the purpose of the research was to elaborate a score to be used at the beginning of the illness, it was decided not to include this variable in the logistic regression analysis model.

To use the value of OR ( $\beta$  coefficient) of the regression logistic model to give points to the variables of the score occurred because, its value evaluate the relationship between the signs and the disease, what is in accordance with the literature studies about score development.<sup>6,8</sup>

In accordance to the literature, apnea is considered one of the most specific sign of sepsis and its frequency in EONS varies between 22-55%.<sup>15,16</sup> This clinical sign may be attributed only to prematurity, in case of newborn with good general status.<sup>15,16</sup> In this score, apnea presented the higher OR value and was presented in 52,2% of the premature newborns with EONS. The study population was composed from premature newborns, at risk or suspicion of infection, so, according to this situation, this variable may alert to the possibility to EONS.

Poor perfusion had a high score of OR, was defined in this study, like shock. The presence of this variable in the absence of hemorrhage, that justify hypovolemic shock and in absence of congenital cardiopatic, excluded the possibility of poor perfusion caused by cardiogenic shock. This variable was presented in 52,2% of the premature newborns with EONS and the literature describes its presence in 46% and 95%, respectively, in cases of severe and sepsis shock.<sup>15,16</sup>

Gastric residuals, like was defined in this study, and in the presence of risk factors of infection, may alert to EONS, because, gastrointestinal signs are present in 35-40% of EONS cases.<sup>15,16</sup> In the present study, this variable was presented in 47,8% of the premature newborns with EONS.

Thermal instability was presented in 37,3% and hypotonia in 26,9% of the premature newborns with EONS, their frequency in the literature is described in 15-28% and 25%, respectively.<sup>1,16</sup> In spite of, these variables may be present in premature newborns without infection, according to GA and BW, in the studied population they may be interpreted in association with the diagnosis of EONS, but, with lower score.

There are laboratory data which can helpful the diagnosis of neonatal sepsis. Manroe et al.<sup>21</sup> developed a criterion for neutrophil counts in neonates, most of them at term. There are some criticisms about the specificity of this criterion to diagnose sepsis because in the beginning of the infection disease, neutrophil counts may be normal.<sup>22</sup> Escobar et al.<sup>4</sup> analyzed the relationship between predictors and the presence of neonatal infection and concluded that the sensitivity of the physical examination was greater than immature:total ration of neutrophil count value to detect neonatal sepsis.

Rodwell et al.<sup>23</sup> created a hematological score with data from 287 preterm and term infants, at risk or suspicion of infection, comprising < 24h to 30 days of life. This score is not specific to indicate infection in premature newborns with age between birth and 72h of life.

The CRP used in the diagnosis of neonatal sepsis, necessity of serial measurements can be complicated in preterm infants. Besides, several non infection conditions may increase

CRP, including: asphyxia, prolonged rupture of membranes, chorioamnionitis, pneumothorax and intraventricular hemorrhage. An accurate method to determinate CRP levels like nephelometry is not available in all setting.<sup>1,24,25</sup>

Inflammatory markers, specially, interleukin-6 are used to detect early neonatal infection. However, studies relate increase in its value, in non infection situation like hypoxic-ischemic encephalopathy and prolonged labor. At the moment, clinical applicability of cytokines is not practical because its expensive cost.<sup>24</sup> There are few and conflicting results about the use of procalcitonin for detection of EONS, the studies report its increase in uninfected situations, e.g, neonates born to mothers with preeclampsia, prolonged ruptures of membranes  $\geq 18$ h and asphyxia.<sup>25</sup>

The decision not to include laboratory variables in the score was to permit its use in setting where laboratory facilities may be scarce. Besides the imprecision of interpretation of leukocyte count in premature newborns and low specificity of inflammatory markers.<sup>1,4,24,25</sup>

As a limitation to this study, the definition of EONS using experts agreement, may have enable a “classification bia”. The research minimized this possibility because the forms were piloted to include all details about the patients records in order to provide the experts with details, so that they can interpret the data in the same way to reach an EONS diagnosis and disagreements were resolved by third expert.<sup>3,17</sup>

The decision to use expert panel to define EONS, occurred because the purpose of this study was to develop a score based in clinical diagnosis of sepsis, in cases of negative blood culture.<sup>4,13,14,17</sup> In the present study the experts were provided with maternal infection data and clinical, radiological and laboratory data of all newborns studied in a follow up during the first 72h of life to define the diagnosis of EONS. The experts and the researcher were blinded with respect of the variables considered in the diagnosis, and, only clinical ones were considered to compose the score, in this way, “incorporation bias” was avoided.<sup>17</sup> The kappa value (Table IV) in the present study indicates fair to good agreement.<sup>18</sup>

It was not possible fractionate the sample in different GA and BW to verify if there were differences in the score variables.

The clinical score developed to diagnose EONS in LBW premature newborns has easy applicability, it has no cost and it is not invasive.

## Acknowledgments

We thank the medical and nursing staff of the ICV, the 3 experts João Medeiros Filho (MD,MSc.,PhD), Eliane Brito(MD) and Suzane Ferraz (MD,MSc.) and Wamberto Costa (radiologist). Most importantly we thank he families of the infants who participated in the study.

### ‘WHAT IS ALREADY KNOWN’

- The difficulty to diagnose early-onset neonatal sepsis in low birth weight premature newborns.

### ‘WHAT THIS STUDY ADDS’

- A clinical score derived through logistic regression analysis, to diagnose early-onset neonatal sepsis in low birth weight premature newborns.

Funding: none

Competing interest: none

## References

01. Kaftan H, Kinney JS. Early Onset Neonatal Bacterial Infections. *Semin Perinatol*.1998; 22: 15-24.
02. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clinics of North America*. 2004; 51:939-59.
03. WHO. The WHO Young Infants Study Group. Clinical prediction of serious bacterial infections in young infants in developing countries. *Pediatr Infect Dis*. 1999; 18:S23-38.
04. Escobar GJ, Li D, Armstrong MA, Gardner MN, Folk BF, Verdi JE et al. Neonatal Sepsis Workups in Infants  $\geq$  2000 Grams at Birth: A Population-Based Study. *Pediatrics*. 2000; 106: 256-63.
05. Bhering CA, Mochdece CC, Moreira MEL, Rocco JR, Sant'Anna GM. Modelo preditivo para displasia broncopulmonar ao final da primeira semana de vida. *J. Ped*. 2007; 83: 163-76.
06. Romagnoli C, Zecca E, Tortorolo L, Vento G, Tortorolo G. A scoring system to predict the evolution of respiratory distress syndrome into chronic lung disease in preterm infants. *Intensive Care Med*. 1998; 24: 476-80.
07. Driver JA, Gaziano JM, Gelber RP, Lee I-M, Buring JE, Kurth T. Development of a risk score for colorectal cancer in men. *American J Med*. 2007; 120: 257-63.
08. Soto A, Solari L, Agapito J, Acuna-Villaorduna C, Lambert M-L, Gotuzzo E. Development of a Clinical Scoring System for the Diagnosis of Smear-negative Pulmonary Tuberculosis. *BJID*. 2008; 12: 128-32.
09. Weber MW, Carlin JB, Gatchalian S, Lehmann D, Muhe L, Mulholland EK et al. Predictors of neonatal sepsis in developing countries. *Pediatr Infect Dis J*. 2003; 22: 711-16.
10. Escobar GJ. What have we learned from observational studies on neonatal sepsis? *Pediatr Crit Care Med*. 2005; 6: S138-45.
11. Escobar GJ. Effect of the Systemic Inflammatory Response Markers of Neonatal Bacterial Infection: A Fresh Look at Old Confounders. *Clin Chem*. 2003; 49: 21-3.
12. Fowlie PW, Schmidt B. Diagnostic test for bacterial infection from birth to 90 days – a systematic review. *Arch Dis Child*. 1998; 78: 92-8.

13. Escobar GJ. The “Neonatal Sepsis Work-up”: Personal Reflections on the Development of an Evidence-Based Approach Toward NEWBORN Infection in a Managed Care Organization. *Pediatrics*. 1999; 103: 360-73.
14. Fisher JE. Physician’s ability to diagnose sepsis in newborns and critically ill children. *Pediatr Crit Care Med*. 2005; 6: 120-5.
15. Silveira RC, Procianoy RS. Sepsis Neonatal Precoce: diagnóstico e conduta. IN: PRORN (Programa de Atualização em Neonatologia), Porto Alegre: Artmed/Panamericana; 2004. p. 9-43.
16. Klein JO. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editores. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 943-97.
17. Knottnerus JA, Muris JW. Assessment of the accuracy of diagnostic tests: the cross-sectional study. In: Knottnerus JA. *The Evidence Base of Clinical Diagnosis*. London: BMJ Books; 2002. p. 39-59.
18. Hatanaka VMA, Benseñor IM. Avaliação de Testes Diagnósticos. In: Benseñor IM, Lotufo PA. *Epidemiologia Abordagem Prática*, editores. São Paulo: Sarvier; 2005. p. 221-45.
19. Panero A, Pacifico L, Rossi N, Mancuso G, Stegagno M, Chiesa C. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr Infect Dis J*. 1997; 16: 370-7.
20. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis –  $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr*. 1999; 88: 647-50.
21. Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr*. 1979; 95:89-98.
22. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Clinical and Laboratory Challenge. *Clin Chem*. 2004; 50: 279 – 87.
23. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr*. 1988; 112: 761-7.
24. Procianoy RS, Silveira RC. The role of sample collection timing on interleukin-6 levels in early-onset neonatal sepsis. *J Pediatr*. 2004; 5: 407-10.
25. Chiesa et al. C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clin Chem*. 2003; 49: 60-8.

**TABLE 1 - Characteristics of mothers and neonates with and without diagnosis of early-onset neonatal sepsis by experts agreement**

| Variables                                          |         | Sepsis by experts |             | p       |
|----------------------------------------------------|---------|-------------------|-------------|---------|
|                                                    |         | Yes (n=67)        | No (202)    |         |
| School time<br>(years)                             | Mean    | 6.9               | 7.2         | 0.559 * |
|                                                    | SD ‡    | 3.5               | 3.3         |         |
|                                                    | 95%CI § | 6.1 – 7.7         | 6.8 – 7.6   |         |
| Maternal age<br>(years)                            | Mean    | 24.3              | 24.0        | 0.733 * |
|                                                    | SD ‡    | 6.7               | 6.6         |         |
|                                                    | 95%CI § | 22.7 – 25.9       | 23.0 – 25.0 |         |
| Prenatal visits<br>(numbers)                       | Mean    | 4.5               | 5.3         | 0.018 * |
|                                                    | SD ‡    | 2.0               | 2.1         |         |
|                                                    | 95%CI § | 4.1 – 5.0         | 4.9 – 5.5   |         |
| Gestational age<br>(weeks)                         | Mean    | 32.5              | 34.1        | 0.001 * |
|                                                    | SD ‡    | 2.0               | 1.5         |         |
|                                                    | 95%CI § | 32 – 33.2         | 33 – 34.4   |         |
| Birth weight<br>(grams)                            | Mean    | 1678              | 1968        | 0.001 * |
|                                                    | SD ‡    | 511               | 449         |         |
|                                                    | 95%CI § | 1577 - 1799       | 1909 - 2026 |         |
| Sex<br>(males : females)                           | N       | 34 : 33           | 100:102     | 0.486 † |
| Mode of deliveries<br>(cesarean section : vaginal) | N       | 41 : 26           | 135 : 67    | 0.243 † |

\* p Mann-Whitney Test

† p Fisher's Test

‡ Standard Deviation

§ 95% Confidence Interval

**TABLE II Variables included in logistic regression analysis**

|                           |     | Sepsis YES<br>(n=67) | Sepsis NO<br>(n=202) | OR †<br>(95%CI) | p *   |
|---------------------------|-----|----------------------|----------------------|-----------------|-------|
| Thermal instability       | Yes | 25                   | 15                   | 7.42            | 0.001 |
|                           | No  | 42                   | 187                  | (3.6 – 15.3)    |       |
| Grunting                  | Yes | 36                   | 64                   | 2.5             | 0.001 |
|                           | No  | 31                   | 138                  | (1.4 – 4.4)     |       |
| Flaring                   | Yes | 29                   | 44                   | 2.7             | 0.001 |
|                           | No  | 38                   | 158                  | (1.5 – 4.9)     |       |
| Severe chest retraction   | Yes | 54                   | 67                   | 8.4             | 0.001 |
|                           | No  | 13                   | 135                  | (4.3 – 13.4)    |       |
| Respiratory rate > 60 ipm | Yes | 26                   | 33                   | 3.2             | 0.001 |
|                           | No  | 41                   | 169                  | (1.8 – 6.0)     |       |
| Apnea                     | Yes | 35                   | 12                   | 17.3            | 0.001 |
|                           | No  | 32                   | 190                  | (8.2 – 36.8)    |       |
| Central cyanosis          | Yes | 30                   | 16                   | 9.4             | 0.001 |
|                           | No  | 37                   | 186                  | (4.7 – 19.0)    |       |
| Pallor                    | Yes | 22                   | 11                   | 8.5             | 0.001 |
|                           | No  | 45                   | 191                  | (3.8 – 18.7)    |       |
| Poor perfusion            | Yes | 37                   | 09                   | 26.4            | 0.001 |
|                           | No  | 30                   | 193                  | (11.6 – 60.0)   |       |
| Gastric residuals         | Yes | 32                   | 15                   | 11.4            | 0.001 |
|                           | No  | 35                   | 187                  | (5.6 – 23.2)    |       |
| Abdominal distension      | Yes | 17                   | 17                   | 3.7             | 0.001 |
|                           | No  | 50                   | 185                  | (1.8 – 7.8)     |       |
| Hypotonia                 | Yes | 18                   | 12                   | 5.8             | 0.001 |
|                           | No  | 49                   | 190                  | (2.6 – 12.9)    |       |
| Lethargy                  | Yes | 15                   | 05                   | 11.4            | 0.001 |
|                           | No  | 52                   | 197                  | (3.9 – 32.7)    |       |

\* p = Fisher's exact Test

†OR = *odds ratio*

(Figures in parentheses are the 95% Confidence Intervals)

**TABLE III - Predictive score for early-onset neonatal sepsis derived for multivariate analyses**

| VARIABLES           | p *   | OR †              | Score |
|---------------------|-------|-------------------|-------|
| Apnea               | 0.001 | 17.8 (6.4 – 49.7) | 2     |
| Poor perfusion      | 0.001 | 17.5 (6.1 – 49.9) | 2     |
| Gastric residuals   | 0.001 | 12.7 (4.5 – 35.6) | 2     |
| Hypotonia           | 0.002 | 7.0 (2.1 – 23.8)  | 1     |
| Thermal instability | 0.018 | 3.4 (1.2 – 9.2)   | 1     |
| TOTAL               |       |                   | 8     |

\* p = Wald Test

†OR = *odds ratio*

(Figures in parentheses are the 95% Confidence Intervals)

**TABLE IV - Agreement between the two experts assessed by the Kappa measurement**

|          |            | EXPERT 2   |           | TOTAL |
|----------|------------|------------|-----------|-------|
|          |            | Sepsis YES | Sepsis NO |       |
| EXPERT 1 | Sepsis YES | 45         | 31        | 76    |
|          | Sepsis NO  | 04         | 189       | 193   |
| TOTAL    |            | 49         | 220       | 269   |

**SOURCE:** Instituto Cândida Vargas, BRAZIL, April 2006 to May 2008

Kappa: 0.64

**APÊNDICE J - Versão em inglês do artigo enviado ao Journal of Tropical Pediatrics****Validation of a Clinical Score for the Diagnosis of Early Onset Neonatal Septicemia in Premature Newborns with Low Birth Weight****Short running title: Validation Score early-onset neonatal sepsis**

Liane C. Viana <sup>1</sup>  
Vera Magalhães <sup>2</sup>  
Constantino Giovanni C. Braga <sup>3</sup>

**Department of Tropical Medicine of Federal University of Pernambuco**

Corresponding author:

Liane Carvalho Viana  
Rua Antônio Lustosa Cabral nº 15, aptº 604, Cabo Branco, João Pessoa – PB, Brasil, CEP  
58045-020.  
e-mail: [lianecviana@hotmail.com](mailto:lianecviana@hotmail.com)  
Fax: (55) 8332167308  
Fone: (55) 8332264498

Competing interest: none

Funding: none

Word count: 2084

---

1 PhD. Professor. Assistant Professor, Department of Pediatrics and Genetics of Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brazil. Author.

2 PhD. Titular Professor, Department of Tropical Medicine of Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil. Co-author.

3 PhD. Professor, Department of Pediatrics and Genetics of Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa, Brazil. Co-author.

## SUMMARY

No scoring validated system is available so far for predicting early-onset neonatal sepsis (EONS) in premature newborns with low birth weight (LBW). This study was aimed to evaluate the diagnostic accuracy of a new score in these patients. Premature infant weighing 1000 - 2499g, admitted to the nursery and/or Intensive Neonatal Care Unit (NICU) of the Instituto Cândida Vargas (ICV), João Pessoa, northeastern Brazil, during 2006 - 2008, at risk or suspected of infection, were followed for the first 72 hours of life to detect sepsis as defined by blood culture. Data concerning history, physical examination and blood culture were collected in a standardized form. The new score was applied to all newborns studied, whose individual value was then calculated. The cut-offs points of the score were analyzed in comparison with blood culture. Three hundred and sixty-seven premature newborns with LBW were evaluated prospectively. Three premature newborns were excluded because they had no clinical signs in spite of not having received any antibiotic and having presented positive blood culture. The best score cut-off point was two and presented sensitivity of 78.6%, specificity of 55.8%, negative predictive value (NPV) of 91.6%, positive predictive value (PPV) of 29.7%, negative likelihood ratio (NLR) of 0.4 and positive likelihood ratio (PLR) of 1.8. In conclusion the score cut-off point of two showed to be helpful to improve sepsis diagnosis in the population studied. Its use can provide further information in relation to initiating antibiotic therapy when positive, and not doing it, when negative, while the diagnosis investigation continues.

## INTRODUCTION

The diagnosis of EONS in premature newborns remains difficult because the disease may start with nonspecific symptoms, similar to the own prematurity.<sup>1-4</sup> Despite its low sensitivity, blood culture stays as a reference pattern for the diagnosis, but the therapy is defined before its results.<sup>1,4</sup>

The clinical and laboratorial scores have utility in clinical decision about patients, because when positive, indicates that the treatment may initiate, while cultures are carried on. There are no clinical score for the diagnosis of EONS in premature newborns.

The importance for improving the accuracy in neonatal sepsis diagnosis aiming to not miss any case and to reduce the consequences of excessive use of antibiotics in neonatal units.<sup>3,4</sup>

Diagnostic test validation consists in detecting its accuracy in comparison with a reference pattern considered the best available method to detect a disease.<sup>5,6</sup>

The objective of the present study was to estimate the diagnostic accuracy of a new score in the diagnosis of EONS in premature LBW babies, by using blood culture as reference pattern.

## MATERIALS AND METHODS

This study concerns the phase III of diagnostic validation.<sup>7</sup>

### Study population

The premature newborns included in the study were followed prospectively until 72 h of life.<sup>3,4,8-10</sup>

The subjects were premature newborns of gestational age ranging from 29 – 36.6 weeks defined by the last menstruation period and/or obstetric ultrasonography, weighing 1000–2499g and admitted to the nursery and/or NICU of the ICV, from April/2006 to May/2008. All newborns were at risk: premature rupture of membranes  $\geq$  18h, chorioamnionitis, non-treated maternal urinary tract infection, maternal fever  $\geq$  37.5°C, fetid amniotic fluid;<sup>11</sup> or suspicion of infection and were investigated by leukocyte count and/or blood culture by neonatologists.<sup>8</sup> The exclusion criteria were: major congenital malformation and neonates investigated or treated as having congenital infections (toxoplasmosis, cytomegalovirus, rubella, syphilis, and HIV).<sup>12</sup>

### Clinical protocol

During the pilot project the records were standardized to contain all study variables. Treating neonatologists were trained to collect the data of the research, and an instruction manual was elaborated containing definitions and information on how they should investigate the variables.

The clinical signs investigated in all infants every 24 h were: respiratory rate  $>$  60/min, severe chest retraction, grunting, apnea, central cyanosis, and flaring (the signs of respiratory distress should persist for at least 24 h in use of oxygen), temperature instability (axillary temperature  $<$  35.6°C or  $>$  37.5°C), abdominal distension, gastric residuals (prefeed aspirates  $>$  20% of the total volume to be offered within 24 h), hepatomegaly, idiopathic jaundice, poor perfusion (pallor, cold or sweat skin, prolonged capillary filling time  $>$  3s, use of volume resuscitation or vasopressor therapy), hypotonia, convulsion, lethargy, irritability, disseminated intravascular coagulation, not looking well newborn (change in skin color like marbling, bradycardia, increasing apnea, need of reanimation with positive pressure ventilation or increase of oxygen concentration after a previous fair clinical condition), sclerema.<sup>13-15</sup>

Blood collection was standardized and performed by the kit Hemoprov I, T.S.B / S.P.S / CO<sup>2</sup> and vacuum, from each newborn before starting empirical antibiotics.<sup>8,9</sup>

The new score to be tested (Table 1) was elaborated in another population of premature newborns with LBW, at risk or suspicion of infection, and was applied to all premature newborns of the validation sample to be compared, in an independent and blinded way, with the blood culture results.

### **Sepsis definition for the study**

EONS was defined with clinical suspicion of infection and positive blood culture performed within 72 h of life.<sup>9,10,11,16,17</sup>

### **Data analysis**

The data were stored with double entrance in a database of the statistical package Epi Info 6.0 version and analyzed by an SPSS 13.0 version and Diagnostic Test Calculator Program (<http://cybermango.org/cgi-bin/testcalc.pl>). The score to be tested and the reference pattern were applied to all patients and analyzed in independent blind comparison.

### **Sample size**

The sample size estimation was performed as suggested by Flahault et al.<sup>18</sup>, who recommend in diagnostic test studies when the prevalence of the disease is below 50%, assuming an expected value of sensitivity (or specificity) of 85%, a representative sampling needs 52 cases diagnosed with the reference pattern. This number of cases permits that in a 95% confidence interval the minimum limit of sensitivity (or specificity) be above 0.65. The number of controls ( $n_c$ ) was obtained from equation:

$$n_c = \text{number of cases} [(1 - \text{Prevalence}) / \text{Prevalence}].$$

The prevalence of clinical EONS reported in the literature varies with the gestational age and birth weight between 10% and 30.7%.<sup>11,19,20</sup> This study considered a prevalence of 15%; so the number of controls was calculated as 294.

This study was approved by ethics committee. A signed consent was obtained from a parent or caregiver.

## RESULTS

Initially 367 premature newborns were evaluated; three premature newborns were excluded because they had no clinical signs in spite of not having received any antibiotic and having presented positive blood culture. Among the 416 blood culture performed, 70 were positive (16.8%).

In relation to the general characteristics of the study population, was observed statistical difference in male sex in relation to female sex in the group with EONS (Table 2).

Antimicrobial therapy was administered to 321 (95.8%) of the infants during at least 7 days. Administration of antibiotics resulted in 74.9% of infants with negative blood culture and in 45.3% of the group with negative score.

The cut-offs points of the score were analyzed in comparison with blood culture (Table 3). The score cut-off point of two when compared to blood culture showed the best sensitivity in relation of the specificity for the diagnosis of EONS in the study population. This cut-off point presented sensitivity, specificity, NPV, PPV, NLR and PLR of 78.6%, 55.8%, 91.6%, 29.7%, 0.4 and 1.8, respectively, and will be comment.

## DISCUSSION

The frequency of 16.8% of EONS proved by blood culture in this study has a result similar to the range reported elsewhere, from 1.9%<sup>15,16</sup> to 18.8%.<sup>2,3,8,19-21</sup>

It was observed a significant difference with respect to male sex and the presence of EONS (Table 2), like literature relates.<sup>9,10,13</sup>

The importance of this research was to test a new score derived from logistic regression model, composed of variables with high association with EONS and specific for premature newborns with LBW. The clinical variables were defined in a finely adjusted way, by taking in account the gestational age and a further detailed statistical analysis was performed.

The score was tested in premature newborns attended at Nursery and Neonatal Intensive Care Unit, including those with minimal clinical signs and more serious clinical state, so the sample had a complete spectrum of patients to whom the test is supposed to be applied in clinical practice.

Seventy premature infants had EONS and 294 did not have the disease, defined by blood culture. Barchmann et al.<sup>22</sup> analyzed samples from 43 studies of diagnostic tests and reported a sample mean of 118 in cases with an average prevalence of the disease of 43%. The median

number of patients with the disease necessary to calculate the sensitivity of the test was 49 and without the disease necessary to calculate the specificity was 76. Thus, in the present investigation, the sample size allowed the calculation of sensitivity and specificity.

When using cut-off point of two, 15 (4.1%) patients not diagnosed by the test had positive blood culture. But, 130 (35.7%) positive-scored patients had negative blood culture. So, conscious about the lower sensitivity of blood culture, the number of patients diagnosed by the score in relation of the blood culture result will be higher, than the number of premature newborns without the diagnosis by the score, in relation of blood culture (Table 3).

The high frequency in antibiotic use in negative blood culture group in comparison with the score-negative group demonstrates that if the score is to be used to decide about initial antibiotic therapy, a reduction of 31.3% of the antibiotic use will happen in the study population.

The sensitivity of 78.6% means that eight in 10 neonates would be diagnosed by the score and therapeutics for EONS should start; and only two in 10 would be false-negative and would not have appropriate therapy.<sup>5,6</sup> As EONS is a serious illness, a highly sensitive test is needed<sup>1</sup>. This value of sensitivity can be considered satisfactory, in comparison with the lower sensitivity of the blood culture. Diagnostic tests for neonatal sepsis composed of laboratorial data are non-specific for premature infants and vary in terms of sensitivity from 50% to 96%.<sup>2,21,23,24</sup>

The specificity of 55.8% means that six in 10 premature neonates would have negative tests and would not have the disease; and four in 10 premature neonates would be false-positive and would be unnecessarily treated.<sup>5,6</sup> The reduced specificity is acceptable for serious illness.  
1,2,4,23,24

The score of Rodwell et al.<sup>21</sup> if  $\geq 3$  provides sensitivity of 96%, and specificity of 78%, although studies of validation for such score are not available for premature newborns from birth to 72h of life. In addition, at the initial clinical signs of sepsis, leukocyte counts can be normal.<sup>1</sup>

Philip and Hewitt<sup>2</sup> evaluated the utility of laboratorial tests to predict neonatal sepsis and reported sensitivity, specificity and PPV of 93, 88, and 39%, respectively; only 29 cases of positive blood culture were observed. The use of inflammatory markers to indicate infection has conflicting results. The sensitivity of interleukin-6 and procalcitonin ranges 70-80% at birth and varies over time.<sup>24,26</sup>

The PPV of 29.7% indicates a probability to have the disease in case of positive test, whose result of the score is close to the ones from other studies<sup>23,24</sup>. The reduced specificity and

low PPV values are acceptable in diagnostic tests for EONS since the use of antibiotics, based on false-positive results, is less harmful than the non-treatment of a false-negative case.<sup>1,4</sup>

The NPV indicates the probability of not having the disease, if the score is negative. The value of the NPV of 91.6%, is near the value 95% of the NPV of the C reactive protein (CRP) in the beginning of the disease.<sup>23,24</sup> The tendency of clinical practice on monitoring febrile children stems from high PNV of the diagnostic scales.<sup>5,6,25</sup> It is useful the application of this score in places where laboratorial resources are scarce.

The PPV and NPV of the cut-off point two were similar to the values of laboratory tests which are not specific to diagnose EONS in premature newborns.<sup>2,21,23,24</sup>

The accuracy of the cut-off point two of the score was 60.2%, meaning the global value of the test, by taking in account the proportion of all correct results, both positive and negative.<sup>5</sup> The diagnostic accuracy in neonatal sepsis is difficult because there is not a definite diagnostic test, since even blood culture has low sensitivity. In consequence, clinicians must accept that some neonates without the disease will have initial treatment for sepsis<sup>1</sup>.

The NLR of 0.4 means that if the score is negative, four out of 10 newborns would not have the disease. The PLR value of 1.8 means that the chance of the test to be positive in premature newborns with EONS, is twice larger than in those without the disease.<sup>5</sup> When interpreting the values of LR of the study, the value of PLR indicates small change in the post-test probability, and about the value of NLR there are small, but important changes in the post-test probability.<sup>5</sup>

A limitation in the study was the low sensitivity of blood culture used as 'reference pattern'. It may have underestimated the real EONS frequency; besides the fact of only one blood culture performed from most of newborns affecting the accuracy of the exam. Isolation of bacteria from blood culture is the most specific diagnostic test of sepsis, but with too many false-negative results to be qualified as a 'gold pattern test'.<sup>10</sup> Like happened in three infants excluded from this study, contamination in blood culture must be considered in asymptomatic children.<sup>23</sup>

When comparing a new test with an imperfect reference pattern, considered as the best possible one, a paradox may result: the new test seems to be worse, even if it is better. This can be explained by the fact that if the new test is highly sensitive, the patients the test identifies will be considered negative by a low sensitivity reference pattern; so the positive cases for the new test will be considered false-positive for the reference pattern.<sup>5,6</sup>

In conclusion, the clinical score would allow additional information related to administration of antibiotics when the score is positive and not doing that when it is negative

while the investigation is carried on. It would also contribute to anticipate therapeutic, reducing hospital expenditure, and preventing bacterial resistance in neonatal units.

### **Acknowledgments**

We are thankful to the medical and nursing staff of the ICV, to professionals of the Dr Marluce Vasconcelos bacteriological laboratory, and to Dr João Medeiros Filho for critical review of the manuscript; and last but not least, to the families of the infants who were the main subjects of this study.

## References

01. Gerdes JS. Clinicopathologic Approach to the Diagnosis of Neonatal Sepsis. Clin Perinatol. 1991; 18:361- 81.
02. Philip AGS, Hewitt JR. Early Diagnosis of Neonatal Sepsis. Pediatrics. 1980; 65: 1036-41.
03. Philip AGS. Decrease use of antibiotics using a neonatal sepsis screening technique. Pediatrics. 1981; 98: 795-9.
04. Gerdes JS, Polin R. Early Diagnosis and Treatment of Neonatal Sepsis. Indian J Pediatr. 1998; 65: 63-78.
05. Hatanaka VMA, Benseñor IM. Avaliação de Testes Diagnósticos. In: Benseñor IM, Lotufo PA. Epidemiologia Abordagem Prática [editores]. São Paulo: Sarvier; 2005. p. 221-44.
06. Fletcher RH, Fletcher SW. Diagnóstico In: Fletcher RH, Fletcher SW. Epidemiologia Clínica. Elementos Essenciais. Porto Alegre: Artmed; 2006. p. 56-81.
07. Sackett DL, Haynes RB. The architecture of diagnostic research. In: Knottnerus A. The evidence base of clinical diagnosis. London: BMJ Books; 2002. p. 19-37.
08. Vieira RCS, Procianoy RS, Mulle LD, Prado CHA. Repercussão da antibioticoterapia materna intraparto no diagnóstico de sepse neonatal precoce. J Ped. 1997; 73: 171-5.
09. Kaftan H, Kinney JS. Early Onset Neonatal Bacterial Infections. Semin Perinatol. 1998; 22: 15-24.
10. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. Pediatr Clin North Am. 2004; 51:939-59.
11. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR et al. Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. J. Pediatric. 1996; 129:72-80.
12. Vaz FAC, Ceccon MEJ, Diniz EMA, Valderato F. Indicadores imunológicos (IgM e proteína C reativa) nas infecções neonatais. Rev Ass Med Bras. 1988; 44: 185-95.
13. Silveira RC, Procianoy RS. Sepse Neonatal Precoce: diagnóstico e conduta. IN: PRORN (Programa de Atualização em Neonatologia), Porto Alegre: Artmed/Panamericana; 2004. p. 9-43.

14. ANVISA. Proposta de Manual sobre a definição dos critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde em neonatologia. <http://www.anvisa.gov.br/divulga/consulta/index.htm> (5 May 2008, date last accessed).
15. Klein JO. Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editores. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 943-97.
16. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Change in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N. Engl J Med.* 2002; 347: 240-7.
17. Escobar GJ. The “Neonatal Sepsis Work-up”: Personal Reflections on the Development of an Evidence-Based Approach Toward NEWBORN Infection in a Managed Care Organization. *Pediatrics.* 1999; 103: 360-73.
18. Flahault A, Cadilhac M, Thomas G. Sample size calculation should be performed for design accuracy in diagnostic test studies. *J Clin Epidemiol.* 2005; 58: 859-62.
19. Panero A, Pacifico L, Rossi N, Mancuso G, Stegagno M, Chiesa C. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1997; 16: 370-7.
20. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis –  $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr.* 1999; 88: 647-50.
21. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr.* 1988; 112: 761-7.
22. Bachmann LM, Puhan MA, Riet t G, Bossuyt PM. Sample sizes of studies on diagnostic accuracy: literature survey. *BMJ.* 2006; 332: 1127-9.
23. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Clinical and Laboratory Challenge. *Clin Chem.* 2004; 50: 279-87.
24. Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, Osborn JF, Signore F, Assumma M et al. C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clin Chem.* 2003; 49: 60-8.
25. Bonadio WA, Hennes H, Smith D, Ruffing R, Melzer- Lange M, Lye P et al. Reability of observation variables in distinguishing infectious outcome of febrile young infants. *Pediatr Infect Dis J.* 1993; 12:111-4.
26. Procianoy RS, Silveira RC. The role of sample collection timing on interleukin-6 levels in early-onset neonatal sepsis. *J Ped.* 2004; 5: 407-10.

**Table 1 - Predictive score for early-onset neonatal sepsis derived for multivariate analyses**

| Score               | p *   | OR †              | Point |
|---------------------|-------|-------------------|-------|
| Apnea               | 0.001 | 17.8 (6.4 – 49.7) | 2     |
| Poor perfusion      | 0.001 | 17.5 (6.1 – 49.9) | 2     |
| Gastric residuals   | 0.001 | 12.7 (4.5 – 35.6) | 2     |
| Hypotonia           | 0.002 | 7.0 (2.1 – 23.8)  | 1     |
| Thermal instability | 0.018 | 3.4 (1.2 – 9.2)   | 1     |
| TOTAL               |       |                   | 8     |

\* p = Wald Test

†OR = *odds ratio*

(Figures in parentheses are the 95% confidence intervals)

**Table 2 - Characteristics of mothers and neonates with and without diagnosis of early-onset neonatal sepsis by blood culture**

| Variables                                          |        | Sepsis by blood culture |             | p        |
|----------------------------------------------------|--------|-------------------------|-------------|----------|
|                                                    |        | Yes (n=70)              | No (294)    |          |
| School time<br>(years)                             | Mean   | 7.1                     | 7.1         | 0.927 *  |
|                                                    | SD †   | 3.4                     | 3.3         |          |
|                                                    | 95% CI | 6.3 – 7.9               | 6.7 – 7.4   |          |
|                                                    | ‡      |                         |             |          |
| Maternal age<br>(years)                            | Mean   | 24.9                    | 23.6        | 0.125 *  |
|                                                    | SD     | 6.8                     | 6.4         |          |
|                                                    | 95% CI | 23.4 – 26.6             | 22.9 – 24.4 |          |
|                                                    |        |                         |             |          |
| Prenatal visits<br>(numbers)                       | Mean   | 4.7                     | 4.8         | 0.813 *  |
|                                                    | SD     | 2.8                     | 2.2         |          |
|                                                    | 95% CI | 4.1 – 5.4               | 4.5 – 5.1   |          |
|                                                    |        |                         |             |          |
| Gestational age<br>(weeks)                         | Mean   | 33.2                    | 33.4        | 0.504 *  |
|                                                    | SD     | 1.8                     | 1.9         |          |
|                                                    | 95% CI | 32.6 – 33.6             | 33.2 – 33.6 |          |
|                                                    |        |                         |             |          |
| Birth weight<br>(grams)                            | Mean   | 1740                    | 1866        | 0.063 *  |
|                                                    | SD     | 513                     | 501         |          |
|                                                    | 95% CI | 1617 - 1862             | 1805 - 1926 |          |
|                                                    |        |                         |             |          |
| Sex<br>(males : females)                           | n      | 46 : 24                 | 157 : 137   | 0.041 ** |
| Mode of deliveries<br>(cesarean section : vaginal) | n      | 42 : 28                 | 174 : 120   | 0.506 ** |

\* p Mann-Whitney Test

\*\* p Fisher's Test

† Standard Deviation

‡ 95% Confidence Interval

**Table 3** - The cut-off points in comparison to the diagnosis of early-onset neonatal sepsis by blood culture

| Score | Blood culture |     | Sensitivity<br>(95% CI) | Specificity<br>(95% CI) | PPV *<br>(95% CI) | NPV †<br>(95%CI) | PLR ‡<br>(95% CI) | NLR §<br>(95%CI) | Accuracy<br>(95% CI) |
|-------|---------------|-----|-------------------------|-------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|----------------------|
| ≥ 1   | 57            | 154 | 81.4%                   | 47.6%                   | 27.0%             | 91.5%            | 1.6               | 0.4              | 54.1%                |
| < 1   | 13            | 140 | (71.0- 89.3)            | (41.9-53.3)             | (21.3-33.3)       | (86.3-95.2)      | (1.3-1.8)         | (0.2-0.6)        | (49.0-59.2)          |
| ≥ 2   | 55            | 130 | <b>78.6%</b>            | <b>55.8%</b>            | <b>29.7%</b>      | <b>91.6%</b>     | <b>1.8</b>        | <b>0.4</b>       | <b>60.2%</b>         |
| < 2   | 15            | 164 | (67.8- 86.9)            | (50.1-61.4)             | (23.5-36.6)       | (86.9-95.1)      | (1.5-2.1)         | (0.2-0.6)        | (55.1-65.1)          |
| ≥ 3   | 35            | 78  | 50%                     | 73.5%                   | 31.0%             | 86.1%            | 1.9               | 0.7              | 68.9%                |
| < 3   | 35            | 216 | (38.4- 61.6)            | (68.2-78.3)             | (23.0-40.0)       | (81.3-89.9)      | (1.4-2.5)         | (0.5-0.9)        | (64.1-73.6)          |

\* PPV= positive predictive value

† NPV = negative predictive value

‡ PLR = positive likelihood ratios

§ NLR = negative likelihood ratios

(Figures in parentheses are the 95% confidence intervals)

**ANEXO A – Aprovação na Comissão de Ética em Pesquisas do Hospital Universitário  
Lauro Wanderley**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

**CERTIDÃO**

Com base na Resolução 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em Seres Humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada em 31/01/06 após análise do parecer do relator, resolveu considerar, APROVADO, o projeto de pesquisa intitulado Elaboração e validação de modelo clínico preditivo de sepse neonatal precoce no município de João Pessoa-Paraíba-Brasil, protocolo número: 014/06, da pesquisadora: Liane Carvalho Viana.

Esta certidão não tem validade para fins de publicação do trabalho, certidão para este fim será emitida após apresentação do relatório final de conclusão da pesquisa, nos termos das atribuições conferidas ao CEP pela resolução já citada.

João Pessoa, 02 de fevereiro de 2006.

  
Solange Fátima Geraldo da Costa  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

## ANEXO B – Normas para publicação Indian Pediatrics

**Research Papers:** These articles should report research relevant to clinical pediatrics including randomized clinical trials, intervention studies, studies of screening and diagnostic tests, cohort studies, cost-effectiveness analyses, case control studies and cross-sectional studies. For reporting research, the authors are expected to comply with the ‘Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals’ prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)(3). Additionally, authors need to adhere to the standard recommended reporting guidelines (*Table I*) depending on the study design of the submitted article.

**Preparing a research paper:** Each manuscript should be accompanied with a structured ABSTRACT in not more than 250 words using the following headings: Objective, Design, Setting, Participants/patients, Intervention (if any), Main Outcome Measures, Results, and Conclusions (See under heading ‘Preparing the Manuscript’). Four to five key words to facilitate indexing should be provided in alphabetical order below the abstract. The text should be arranged in sections on INTRODUCTION, METHODS, RESULTS and DISCUSSION. Key Message should be provided at the end of the manuscript in a box under 2 headings: ‘What is Already Known’ and ‘What this Study Adds’. As far as possible, authors should restrict to a one line answer for each of these two queries. Number of tables and figures should be limited to a maximum of 4 and 2 respectively. Extra tables and figures, subject to clearance by editorial review process, can be allowed on payment. The typical text length for such contributions is 1500-2000 words (excluding title page, abstract, tables, figures, acknowledgments, key messages and references). Number of references should be limited to 25

### Title Page

The page should contain (i) the title of the article: which should be concise but informative (simpler the title the better; preferably it should contain all the key words to help electronic retrieval reliably); (ii) a short running title of not more than 40 characters placed at the foot end of the title page; (iii) initials and surname (both are essential) of each author with the highest academic degree(s) and designation at the time when the work was done; Initials will not be accepted for surnames. For example; ‘Vidya K’: here, ‘K’ will be considered as the Initial and ‘Vidya’ will be indexed as surname; (iv) details of the contribution of each author;

(v) name of department(s) and institution(s) to which the work should be attributed; (vi) disclaimers, if any; (vii) name, address, telephone, fax, e-mail address of the corresponding author, (viii) source(s) of support in the form of grants, equipment, drugs or all of these; and (ix) declaration on competing interests; and (x) word count (not including abstract, tables, figures, acknowledgments, key messages and references). Also, indicate on top the category (i.e. Research Paper, Short Communications, Review, Case Report, Images, Correspondence *etc.*), for which the article is being submitted.

## **Abstract and Key words**

### **Introduction**

The introduction must clearly justify and state the question that the author(s) tried to answer in the study. It may be necessary to briefly review the relevant literature. Cite only those references that are essential to justify the proposed study.

### **Methods**

The methods section should describe, in logical sequence, how the study was designed (*e.g.* how randomization was done), carried out (*e.g.* how subjects were chosen or excluded, ethical considerations, accurate details of materials used, exact drug dosage and form of treatment *etc.*) and data were analyzed (*e.g.* an estimate of the power of the study, exact test used for statistical analysis *etc.*). For standard methods, appropriate references are sufficient, but if standard methods are modified these should be clearly brought out. Authors should provide complete details of any new methods or apparatus used (manufacturer's name and address in parentheses).

**Ethics:** All studies involving human subjects must address the ethical issues. When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1964, as revised in 2004(14). All such studies should have obtained ethical clearance in writing from a formally constituted Research Ethics Committee or Institutional Review Board as the case may be. Indian Pediatrics reserves the right to demand a copy of the relevant document whenever necessary. Even when a study has been approved by a research ethics committee or institutional review board, editors may be worried about the ethics of the work. Editors may then ask authors for more detailed information and ask them how they justified the ethical and moral basis of the work. Editors may also ask authors to provide the contact details of the research ethics

committee that reviewed the work, so that the journal can request further information and justification from that committee. For studies that have not been reviewed by research ethics committees or institutional review boards editors may ask authors to explain what ethical issues they considered and how they justified their work. Editors may consult other editorial colleagues, association of medical editors or more commonly the “Ethical Committee” of Indian Pediatrics to evaluate the ethical aspects of any article, and reserve the right to reject a manuscript on ethical grounds, on the basis of recommendations of its “Ethical Committee”, even if the research was cleared by the institutional research board. Besides rejecting the manuscript, Indian Pediatrics reserves the right of explaining such concerns to the head of the authors’ institution or medical council in order to prevent unethical practice and to protect patients.

Informed consent must be obtained in writing from all human participants of a trial. Indian Pediatrics reserves the right of seeking from the authors the details of the information given to subjects about the deviations from the normal, the risks involved and the potential benefits to the society. Authors should not use patients' names, initials, or hospital numbers, especially in illustrative material. Written consent must be obtained from patients or caregivers for publication (in print or electronic form) of clinical details or/and clinical photographs in all ‘Case Reports’, ‘Images’ and qualitative research reports. The identity of the patient in clinical photographs should be masked by suitable methods.

**Statistics:** Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Provide actual *P* values, rather than stating as just  $< 0.05$  or  $> 0.05$  etc. References for the design of the study and statistical methods should be to standard works when possible (with pages stated) rather than to papers in which the designs or methods were originally reported. Specify any general-use computer programs used. Define statistical terms, abbreviations, and most symbols.

## **Results**

This section should include only relevant, representative data and not all information collected during the study. Major findings should be presented clearly and concisely. Text, tables, and illustrations should be used sensibly. Avoid repeating in the text all the data depicted in the tables or illustrations; emphasize or summarize only important observations. Restrict tables and figures to those needed to explain the argument of the paper and to assess its support. Cite

the tables in the text and type them on separate sheets. It may also be useful to mention what the study did not find.

### **Discussion**

Discussion ordinarily should not be more than one third of the total length of the manuscript. Do not attempt a detailed review of literature. This section should include, in the order specified: (i) a summary of the major findings, (ii) their relationship to other similar studies, (iii) strength and limitations of methods and (iv) implications of these findings in future research. Conclusions should be linked to the goals of the study. Avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by the data. Authors should also refrain from making statements on economic benefits and costs unless their manuscript includes economic data and analyses.

### **Acknowledgments**

List all contributors who do not meet the criteria for authorship, such as a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department head who provided only general support. Financial and material support should also be acknowledged. Groups of persons who have contributed materially to the paper but whose contributions do not justify authorship may be listed under a heading such as “clinical investigators” or “participating investigators,” and their function or contribution should be described – for example, “served as scientific advisers,” “critically reviewed the study proposal,” “collected data,” or “provided and cared for study patients.” A written consent is required from all the persons acknowledged, indicating their acceptance for the same.

### **References**

Authors need to be accurate in citing and quoting references(15). References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in curved parentheses. References cited only in tables or in legends to figures should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure.

Use the style of the examples below. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Do not use abstracts, unpublished observations and personal communications as references. References to papers accepted but not yet published should be designated as "in press"; authors should obtain written permission to cite such papers as well as verification that they have been accepted for publication.

The references must be verified by the author against the original documents. The Uniform Requirements style (the **Vancouver style**) is based largely on an American National Standards Institute (ANSI) standard style adapted by the NLM for its databases

### **Tables**

Type each table with double-spacing on a separate sheet of paper. Do not submit tables as photographs. Number tables consecutively (Roman numerals) in the order of their first citation in the text, and supply a brief but self-explanatory title for each. Tables with only two columns should be avoided. Give each column a short or abbreviated heading. Place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain in footnotes all nonstandard abbreviations that are used in each table. For footnotes use the following symbols, in this sequence: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡, §§ and so on. Identify statistical measures of variations such as standard deviation and standard error of the mean. Do not use internal horizontal and vertical rules. Be sure that each table is cited in the text. If data is used from another published or unpublished source, obtain permission and acknowledge them fully.

### **Abbreviations and Symbols**

Use only standard abbreviations. Avoid abbreviations in the title and abstract. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. Year, month, day, hour, minute and second should be abbreviated as yr, mo, d, h, min, and s respectively.

**ANEXO C – Confirmação de envio do artigo ao Indian Pediatrics****Submission article**

De: **Liane Carvalho Viana** (lianecviana@hotmail.com)

Enviada: quinta-feira, 22 de janeiro de 2009 14:35:43

Para: [jiap@nic.in](mailto:jiap@nic.in)

Cco: [editorinchief.indianpediatr@gmail.com](mailto:editorinchief.indianpediatr@gmail.com)

@ 1 anexo(s)

Indian.pdf (131,6 KB)

Se estiver encontrando problemas para baixar os anexos, entre novamente e selecione "Lembrar-me neste computador".

Entre novamente

Dear Sr Editor-in- Chief of Indian Pediatrics,

I am submitting the following article (annexure) as Research Paper (Observational Studie).

Yours faithfully,

Liane Carvalho Viana

## **ANEXO D - Normas para publicação no Journal of Tropical Pediatrics**

### ***PREPARATION OF MANUSCRIPTS***

Original papers should not usually be more than 2000 words in length. Regular full length papers should be divided into the following sequence of sections, and each section should begin on a new page:

- Title page
- Summary
- Text
- Acknowledgements
- References
- Legends to figures
- Tables.

Number each page at the top right corner consecutively, beginning with the title page. Please avoid footnotes; use instead, parentheses within brackets. Underline only words which should appear in italic. Clearly identify unusual or handwritten symbols and Greek letters.

Differentiate between the letter O and zero, and the letters I and l and number 1. Mark the position of each figure and table in the margin. SI units should be used for scientific measurements.

### ***References***

Number references consecutively in the order in which they are cited in the text. Published articles and those in press (state the journal which has accepted them) may be included. References should include (in the following order) author's names, editors (books only) paper title in full, journal/book title, name and address of publisher (books only), year, volume number and inclusive page numbers. Personal communication should be authorized by those involved, in writing, and unpublished data should be cited as (unpublished data). Papers in preparation or submitted for publication should not be in the reference list. They should be cited in the text as follows: H. G. Jones, unpublished results/submitted for publication/in preparation (as appropriate).

***Tables***

Tables should be typed on separate sheets, and numbered consecutively. Tables should be self-explanatory and include a brief descriptive title. Footnotes to tables indicated by lower case letters are acceptable, but they should not include extensive experimental detail. Cite each table in the text in consecutive order.

## ANEXO E – Confirmação de envio do artigo ao Journal of Tropical Pediatrics

Journal of Tropical Pediatrics - Manuscript ID JTP-2009-026-OP

De: onbehalf@scholarone.com em nome de jtroped@dsl.pipex.com

 Você pode não conhecer este remetente. Marcar como confiável Marcar como não confiável

Enviada: quinta-feira, 22 de janeiro de 2009 15:58:03

Para: lianerviana@hotmail.com

22-Jan-2009

Dear Prof. Viana,

Your manuscript entitled "Validation of a Clinical Score for the Diagnosis of Early Onset Neonatal Septicemia in Premature Newborns with Low Birth Weight" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Journal of Tropical Pediatrics.

Your manuscript ID is JTP-2009-026-OP.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/tropedj> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/tropedj>.

Thank you for submitting your manuscript to the Journal of Tropical Pediatrics.

Sincerely,

Journal of Tropical Pediatrics Editorial Office