

# Early-onset neonatal sepsis: cord blood cytokine levels at diagnosis and during treatment

*Sepse neonatal precoce: níveis de citocinas no sangue de cordão umbilical  
no diagnóstico e durante o tratamento*

Dulcimar P. Campos<sup>1</sup>, Marcos V. Silva<sup>2</sup>, Juliana R. Machado<sup>3</sup>,  
Lúcio R. Castellano<sup>4</sup>, Virmondos Rodrigues<sup>5</sup>, Cristina H. C. Barata<sup>6</sup>

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar parâmetros clínicos, laboratoriais e citocinas séricas em 55 neonatos que desenvolveram sepse precoce.

**Métodos:** Avaliamos os parâmetros clínicos dos neonatos relacionados com sepse precoce. No dia do diagnóstico de sepse e 48 horas após, foram realizados o leucograma diferencial e a dosagem de proteína C reativa e glicemia. As citocinas IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-6 e TNF- $\alpha$  foram determinadas no sangue do cordão, no dia do diagnóstico de sepse, 48 e 96 horas após o início do tratamento.

**Resultados:** O tempo de internação dos neonatos foi inversamente proporcional ao peso no nascimento. Os parâmetros clínicos foram variados, especialmente a temperatura corpórea. Alterações de glicemia foram frequentes, principalmente a hipoglicemia. A alteração de hemograma mais prevalente foi a leucopenia, devido principalmente à neutropenia. Os níveis de proteína C reativa se mostraram correlacionados com o índice neutrofílico. Observamos uma correlação positiva entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-10 entre o curso da sepse precoce e os níveis observados no cordão umbilical.

**Conclusões:** As alterações clínicas e laboratoriais entre os neonatos com sepse são variadas. Neonatos que apresentam elevações no padrão de citocinas no momento do parto permanecem com seus níveis elevados durante o processo infeccioso.

*J Pediatr (Rio J). 2010;86(6):509-514: Sepse precoce, neonatos, citocinas, TNF- $\alpha$ , IL-10.*

## Abstract

**Objective:** To assess clinical and laboratory parameters and serum cytokine levels in 55 neonates who developed early-onset sepsis.

**Methods:** Clinical parameters associated with early-onset neonatal sepsis were assessed. White blood cell differential and serum C-reactive protein and glucose levels were measured upon diagnosis of sepsis and 48 hours later. IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-6, and TNF- $\alpha$  levels were measured in cord blood samples obtained on the day of diagnosis and from samples collected 48 and 96 hours after treatment onset.

**Results:** Among newborns with early-onset sepsis, the length of hospital stay was inversely correlated with birth weight. Clinical parameters varied widely, especially body temperature. Blood glucose changes – particularly hypoglycemia – were common. Leukopenia, usually due to neutropenia, was the most prevalent change in blood cell count. C-reactive protein levels correlated with the immature-to-total neutrophil ratio. Serum TNF- $\alpha$  and IL-10 levels measured early in the course of sepsis were positively correlated with those detected in cord blood.

**Conclusions:** Clinical and laboratory parameters varied widely among neonates with sepsis in this sample. In neonates who presented with increased cytokine levels at birth, this abnormality persisted throughout the infectious process.

*J Pediatr (Rio J). 2010;86(6):509-514: Early-onset sepsis, neonates, cytokines, TNF- $\alpha$ , IL-10.*

1. Mestre, Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG. Médica Pediatra, Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica e Neonatal, Hospital das Clínicas, UFTM, Uberaba, MG.
2. Mestre, Medicina Tropical e Infectologia. UFTM, Uberaba, MG.
3. Mestre, Patologia Geral. UFTM, Uberaba, MG.
4. Mestre, Medicina Tropical e Infectologia. UFTM, Uberaba, MG. Professor, Escola Técnica de Saúde, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB.
5. Professor titular, Disciplina de Imunologia, UFTM, Uberaba, MG.
6. Professora, Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias, UFTM, Uberaba, MG.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FUNEPU.

**Como citar este artigo:** Campos DP, Silva MV, Machado JR, Castellano LR, Rodrigues V, Barata CH. Early-onset neonatal sepsis: cord blood cytokine levels at diagnosis and during treatment. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86(6):509-514.

Artigo submetido em 22.07.10, aceito em 17.09.10.

doi:10.2223/JPED.2043

## Introdução

A sepse é um dos quadros infecciosos mais frequentes no período neonatal, permanecendo como uma importante causa de morbimortalidade apesar do extraordinário desenvolvimento da neonatologia nos últimos anos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reporta que há cerca de 5 milhões de óbitos neonatais por ano no mundo, sendo, destes, 98% nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento<sup>1</sup>.

A sepse neonatal precoce se manifesta, geralmente, até 72 horas de vida, sendo que 80 a 90% têm seu início nas primeiras 48 horas de vida e, ao menos que evidências importantes sugiram o contrário, essas infecções são consideradas como de origem materna<sup>2</sup>. Apresenta, em geral, um início silencioso cujos sinais e sintomas permanecem bastante inespecíficos e confundem-se com condições próprias da idade, tais quais: taquipneia transitória do recém-nascido, distermias ambientais, apneia de prematuridade e exacerbações agudas da displasia broncopulmonar. Observa-se, ainda, que para cada recém-nascido verdadeiramente séptico, um grande número deles é tratado apenas por suspeita clínica presumida e não confirmada de infecção<sup>3,4</sup>.

O diagnóstico preferencial de sepse é a hemocultura (padrão-ouro), entretanto seu índice de positividade varia amplamente, de 30 a 87%<sup>5</sup>. Nesse contexto, para auxiliar e possivelmente acelerar o diagnóstico da sepse, o profissional médico deve lançar mão de testes inespecíficos e complementares de diagnóstico. A elevação da proteína C reativa (PCR) também tem sido um marcador útil para sepse em muitos estudos, apesar de seu valor preditivo negativo e sensibilidade não serem suficientemente elevados para que ela, unicamente, se constitua no teste diagnóstico definitivo<sup>6,7</sup>.

Nos últimos anos, as citocinas têm sido amplamente estudadas como marcadores fidedignos de infecção neonatal. A IL-6 tem sido associada com corioamnionite materna e usada no diagnóstico inicial de sepse neonatal precoce quando detectada em níveis elevados no sangue de cordão umbilical<sup>8</sup>. Níveis elevados de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  parecem estar relacionados com a maior gravidade da doença, embora alguns estudos não confirmem essa relação<sup>9,10</sup>. Quando utilizados em combinação com IL-6, podem apresentar sensibilidade de até 98,5%<sup>11</sup>. Isoladamente, a IL-1 $\beta$  tem sido descrita como marcador de sepse neonatal, embora sua eficácia diagnóstica seja inferior à da IL-6 e TNF- $\alpha$ <sup>12</sup>. A IL-10 também tem sido associada ao choque séptico, tanto em adultos quanto em crianças, e altos níveis têm sido correlacionados com pior prognóstico na sepse, podendo ser um preditor de gravidade no choque séptico e de óbito<sup>13</sup>; na vigência de processos inflamatórios, atua inibindo a ação do TNF- $\alpha$  e na restauração da homeostase<sup>14</sup>. A normalização dos níveis de IL-10 é importante, pois seu aumento propicia o desenvolvimento de falência múltipla dos órgãos<sup>15</sup>. Já foi demonstrado que a resposta adequada de IL-10 pode ser um efeito protetor a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) e que a relação IL-6/IL-10 elevada está associada com pior prognóstico<sup>16</sup>.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os níveis de citocinas no sangue de cordão umbilical no momento do diagnóstico e após o início do tratamento de recém-nascidos com sepse neonatal.

## Materiais e métodos

### Pacientes

Os neonatos foram oriundos da Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica e Neonatal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), no período de março de 2008 a janeiro de 2009. Foram incluídos todos os 55 neonatos com evidência clínica ou laboratorial de sepse nas primeiras 72 horas de vida, que sobreviveram por no mínimo 7 dias e que não apresentavam qualquer dos critérios de exclusão. Utilizamos os seguintes critérios definidores de sepse: para nascidos a termo, SIRS na presença de infecção suspeita ou comprovada<sup>17</sup>; para os nascidos prematuros, fatores de risco como sinais clínicos e análise laboratorial<sup>18</sup>. O diagnóstico de sepse foi seguido pelo início da antibioticoterapia, suspensa após melhora clínica dos neonatos acompanhada de normalização dos exames laboratoriais. Embora nas amostras do dia do diagnóstico os neonatos não estivessem sob uso de antimicrobianos, em todas as avaliações realizadas 48 e 96 horas após o diagnóstico, os neonatos estavam sob antibioticoterapia. Os critérios de exclusão foram aqueles que podiam interferir nos exames clínicos e laboratoriais, principalmente os relacionados com a SIRS: asfixia perinatal, Apgar menor que 5, sinais de hipoxia nas primeiras 72 horas, infecção materna, sorologias positivas da mãe, uso de corticoide pela mãe, bolsa rota mais que 6 horas e recém-nascidos com malformações congênitas.

Foram avaliados parâmetros clínicos como: gênero, peso ao nascimento, tipo de parto, frequência cardíaca e respiratória, perfusão periférica, temperatura corporal, saturação de oxigênio e atividade do recém-nascido. Além disso, foram avaliados glicemia, PCR, leucograma diferencial, hemocultura e concentração sérica de citocinas.

### Métodos

As coletas de sangue foram realizadas no momento do parto de todos os recém-nascidos no período, via cordão umbilical, no momento do diagnóstico de sepse e após 48 e 96 horas. As amostras de sangue foram coletadas em tubo com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e utilizadas parcialmente para realização do hemograma; o plasma foi separado e utilizado para determinação da concentração de PCR, por método quantitativo, seguindo as instruções do fabricante de *kit* bioquímico (Human do Brasil, Itabira, MG) e de glicemia através de Glicoteste (Roche, EUA). O restante da amostra foi congelado em *freezer* a -70 °C para utilização posterior na dosagem de citocinas.

O hemograma foi realizado nas amostras coletadas no dia do diagnóstico e 48 horas pós-diagnóstico, por método automatizado. Também foi determinada a concentração da PCR e glicemia por método quantitativo. As hemoculturas foram realizadas em meio líquido *brain heart infusion* (BHI), a partir de uma amostra de sangue do recém-nascido colhida no dia do diagnóstico de sepse de no mínimo 1 mL.

As citocinas foram quantificadas pelo método de ELISA, IL-6, IL-10, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  (BD Pharmingen, EUA), conforme Pissetti et al.<sup>19</sup>.

### Análise estatística

Foi realizada por meio dos programas Excel 2007 for Windows (Microsoft, EUA) e Statview (Abacus, EUA). As variáveis nominais foram analisadas, quando necessário, pelo teste do qui-quadrado. As variáveis contínuas foram analisadas pelos testes de Mann-Whitney e ANOVA para medidas repetidas, conforme necessário. As correlações foram avaliadas pelo teste de Spearman. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

### Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM, sob o protocolo 1146. Todos os responsáveis pelos neonatos avaliados neste estudo assinaram o termo de consentimento livre após esclarecimento.

### Resultados

Dos 55 neonatos, 28 eram do sexo masculino (51%). A idade materna apresentou uma média de 23,7 anos. Com relação ao tempo de internação dos recém-nascidos, o período variou de 5 a 285 dias, com um tempo de permanência médio de 39,9 dias [desvio padrão (DP) = 5,4].

A maioria dos neonatos, 85,3%, nasceu prematura (< 37 semanas de gestação). Em relação ao peso no nascimento, 14% dos neonatos tiveram peso normal (acima de 2.500 g), 22% apresentaram baixo peso (entre 1.500 e 2.500 g), 51% foram classificados como apresentando muito baixo peso (entre 1.000 e 1.500 g), e 14% apresentaram extremo baixo peso (abaixo de 1.000 g).

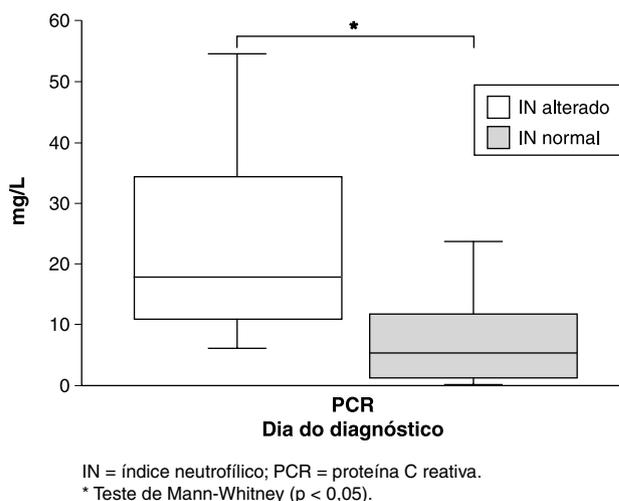
No dia do diagnóstico, os parâmetros clínicos se apresentaram variados entre os neonatos. A hipotermia e a hipertermia estiveram presentes em 33 e 31% dos neonatos, respectivamente. Foram considerados bradicárdicos 5% e taquicárdicos 11% dos neonatos. A perfusão periférica e a saturação de O<sub>2</sub> estavam normais em 67 e 78% dos pacientes, respectivamente, enquanto que o nível de atividade dos recém-nascidos esteve diminuído em 94% destes.

Com relação aos exames laboratoriais, observamos alterações na glicemia em 99% dos neonatos, sendo a hipoglicemia o achado mais comum (58%). No caso da hemocultura, esta se mostrou positiva apenas em seis recém-nascidos (10,9%), sendo que em quatro foi isolada *Klebsiella pneumoniae*, em um foi isolado *Enterobacter cloacae*, e em um foi isolado *Staphylococcus sp.*

A intercorrência mais comum no leucograma realizado no dia do diagnóstico foi a leucopenia (54,5%). Dentre a contagem diferencial, a neutropenia foi o achado mais relevante (52%). Após 48 horas do início do tratamento, observamos um padrão muito similar no leucograma, havendo apenas uma elevação no percentual de neonatos apresentando leucopenia (69%), provavelmente indicando uma progressão do quadro séptico nestes. Apontamos, ainda, uma associação entre a alteração da contagem total de leucócitos e a neutropenia; os pacientes leucopênicos apresentam contagem de neutrófilos estatisticamente menor que os demais no dia do

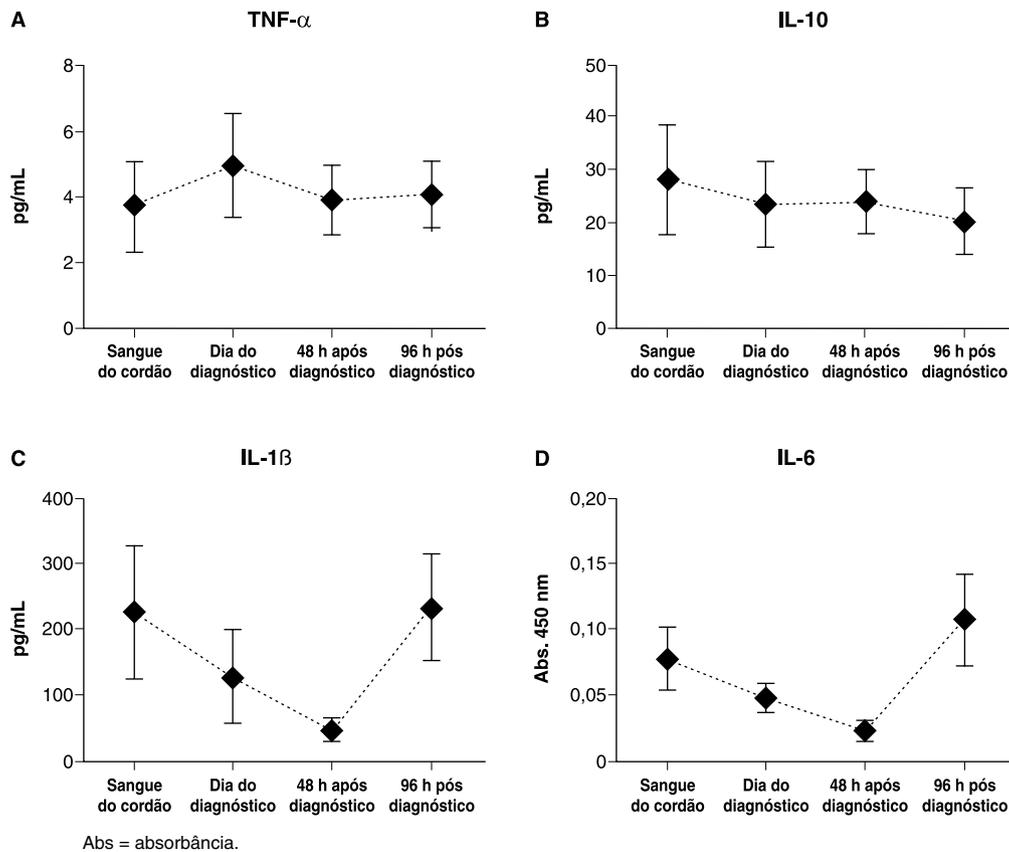
diagnóstico e 48 horas após início do tratamento ( $p < 0,0001$  e  $p = 0,0009$ , respectivamente).

Embora apenas 12,7% dos neonatos tenham apresentado índice neutrofílico (IN) aumentado, observamos que a alteração desse índice foi acompanhada por aumento nos valores de PCR (Figura 1). Observamos, ainda, que os resultados dos referidos exames se correlacionaram positivamente no dia do diagnóstico de sepse (Spearman *rank test*;  $p = 0,029$ ;  $r = 0,3$ ) e 48 horas após o início do tratamento (Spearman *rank test*;  $p = 0,022$ ;  $r = 0,31$ ).



**Figura 1** - Relação entre os níveis de proteína C reativa e índice neutrofílico. Concentração de proteína C reativa entre neonatos com índice neutrofílico normal e aumentado

Avaliamos os níveis de citocinas séricas em diferentes momentos nos recém-nascidos que desenvolveram quadro de sepse. Nossa avaliação foi realizada no momento do parto, com a coleta de amostra de sangue fetal, via cordão umbilical, bem como através de amostra de sangue periférico, na data do diagnóstico de sepse e depois de passados os períodos de 48 e 96 horas após início de tratamento. Não observamos diferenças estatisticamente significativas nos níveis de citocinas no decorrer do tempo em nenhuma das citocinas analisadas, embora para IL-10 e TNF- $\alpha$  tenhamos observado um comportamento semelhante, com pouca variação na concentração média entre os diferentes dias (Figuras 2A e 2B); da mesma forma, IL-1 $\beta$  e IL-6 apresentaram uma tendência de queda até 48 horas, seguida por elevação 96 horas pós-início de tratamento (Figuras 2C e 2D). Interessantemente, observamos correlação positiva entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-10 detectados no cordão umbilical e no dia do diagnóstico ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,71$ ;  $p < 0,001$ ;  $r = 0,55$ ; respectivamente), 48 horas ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,55$ ;  $p = 0,026$ ;  $r = 0,42$ ; respectivamente) e 96 horas após o início do tratamento ( $p = 0,004$ ;  $r = 0,5$ ;  $p = 0,006$ ;  $r = 0,48$ ; respectivamente).



**Figura 2** - Níveis séricos de citocinas: A) TNF- $\alpha$ , B) IL-10, C) IL-1 $\beta$  e D) IL-6 no momento do nascimento, no dia do diagnóstico de sepse, 48 e 96 horas após o início do tratamento. Os símbolos indicam a média e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. Teste ANOVA para medidas repetidas

Não observamos diferenças estatisticamente significativas entre os níveis de citocinas entre os nascidos prematuros e os nascidos a termo, assim como entre aqueles nascidos de parto cesariano ou parto normal. Também de maneira importante, não observamos diferenças nos níveis de citocinas de acordo com o peso ao nascimento em quaisquer dos momentos analisados.

## Discussão

No presente estudo, observamos um equilíbrio na distribuição dos recém-nascidos sépticos em relação ao sexo. Estudos na literatura sugerem uma predisposição ao desenvolvimento de sepse neonatal em crianças do sexo masculino<sup>20</sup>. A média da idade materna mostrou-se por volta dos 23 anos em nosso estudo. Estudo de Goulart et al.<sup>21</sup> apontou um aumento de 1,5 vezes no risco de desenvolver sepse em neonatos de mães com menos que 25 anos. Previamente, foi demonstrada maior suscetibilidade para o desenvolvimento

de sepse em neonatos de muito baixo peso<sup>22</sup>, reforçando o potencial agravante dessa condição no desenvolvimento da sepse. Estudos apontam um risco 25 vezes maior de recém-nascidos com muito baixo peso desenvolver sepse em relação àqueles com peso normal<sup>23</sup>.

Apesar dos grandes esforços no sentido de isolar os microrganismos, em média, as culturas de sangue são positivas em 34% dos pacientes "sépticos", variando entre 9 e 64%<sup>24</sup>. Como em nossa unidade faz parte do protocolo a administração de terapia antimicrobiana em neonatos prematuros ou com sepse clínica, isso pode ter influenciado em nossa baixa positividade na hemocultura.

A maioria de nossos neonatos apresentou alterações na glicemia, sendo mais comum a hipoglicemia. Waeschle et al. deram importante contribuição na associação entre o mau prognóstico do quadro de sepse e alterações do nível glicêmico, assim como variações entre hipoglicemia e hiperglicemia durante o quadro séptico como predisponente ao óbito<sup>25</sup>. Dentre as frações do leucograma, a neutropenia é

a preditora mais fidedigna de sepse neonatal, refletindo a gravidade da sepse neonatal, representando uma depleção da reserva medular de neutrófilos e requerendo medidas terapêuticas específicas<sup>26</sup>.

A PCR tem sido utilizada como um importante indicador precoce do desenvolvimento de sepse, e uma diminuição dos níveis de PCR, aliada a indicativos de melhora clínica, é utilizada como parâmetro para suspender a administração de antibióticos em nossa unidade, como já descrito na literatura<sup>27</sup>. Sabel & Wasworth<sup>28</sup> observaram que 85% dos recém-nascidos com diagnóstico de sepse e meningite tinham proteína C reativa positiva durante as primeiras horas após o início dos sinais clínicos da infecção, sugerindo forte correlação entre presença dessa proteína e infecção, como também sua rápida produção. Observaram ainda que 16 de 18 recém-nascidos (89%) com idade gestacional entre 27 e 36 semanas, portadores de sepse, tinham proteína C reativa positiva<sup>28</sup>.

Da mesma forma que a PCR, o IN tem sido apontado como um bom parâmetro do desenvolvimento de sepse neonatal<sup>18</sup>. Encontramos uma interessante associação entre a determinação da PCR e do IN, onde os valores da primeira se encontram estatisticamente mais elevados naqueles neonatos com alteração do IN, seja no dia do diagnóstico ou 48 horas após. Se, por um lado, isso nos indica que as alterações em alguns neonatos sépticos afetam ambos os índices, também podemos perceber que naqueles onde o IN não se encontra alterado os valores de PCR são mais baixos, prejudicando, assim, a utilização de ambos os índices nesses neonatos.

As citocinas têm sido estudadas como marcadores fidedignos de infecção neonatal, particularmente IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Devido à sua natureza inflamatória sistêmica, tem-se tentado correlacionar o aumento de citocinas pró-inflamatórias ou a diminuição das citocinas anti-inflamatórias com o desenvolvimento da sepse. Em nosso estudo, embora não tenhamos observado variação nos níveis de citocinas nos momentos analisados, aqueles neonatos que apresentavam os maiores níveis séricos de citocinas durante o quadro infeccioso já o apresentavam no sangue do cordão, persistindo até 96 horas após o diagnóstico de sepse para IL-10 e TNF- $\alpha$ .

Em um estudo multicêntrico realizado por Küster et al.<sup>29</sup> avaliando marcadores inflamatórios na sepse neonatal, estes concluíram que os níveis das citocinas já se encontravam elevados 2 dias antes de ser feito o diagnóstico de sepse; foi observado que ocorriam elevações nos níveis de IL-1RA e IL-6 e que essas elevações já podiam ser percebidas 48 horas antes do diagnóstico. Estudo realizado por Silveira & Procianoy<sup>11</sup> mostrou que uma combinação de IL-6 e TNF- $\alpha$  forneceu sensibilidade de 98,5% e valor preditivo negativo de 90%, havendo, portanto, boas probabilidades de diagnóstico e de exclusão de infecção. Ceccon<sup>30</sup> apontou a IL-6 em vantagem sobre os demais marcadores, PCR e IL-8, no dia do diagnóstico, enquanto que 24 horas pós-diagnóstico a PCR demonstrou melhor acurácia.

A maioria dos estudos objetiva acessar sinais cada vez mais precoces da instalação do quadro de sepse, embora ainda não se tenha um consenso quanto à aplicabilidade real dessas determinações. Além disso, a dosagem de citocinas como

rotina envolve um custo elevado e ainda há uma ausência de valores de referência confiáveis, sendo sua concentração muito variável de pessoa a pessoa e muito influenciada por fenômenos externos.

Em nosso estudo, a elevada heterogeneidade na produção de citocinas em neonatos sépticos no momento do parto pode representar uma importante dificuldade no uso das citocinas como marcadores diagnósticos fidedignos, indicando que nem todos os neonatos sépticos se comportam com um padrão definido de baixa ou alta produção de citocinas. Por outro lado, a determinação de citocinas circulantes no sangue do cordão umbilical indica que o comportamento imunológico do recém-nascido na sepse precoce já se direciona desde o momento do parto e sugere que o processo infeccioso já possa estar em curso.

### Agradecimentos

Agradecemos à UFTM, ao Serviço de Unidade de Terapia Intensiva Neonatal e Pediátrica do Hospital de Clínicas da UFTM e à Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia.

### Referências

1. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. *Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network*. *Pediatrics*. 2002;110:285-91.
2. Haque KN. *Definitions of bloodstream infection in the newborn*. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6:S45-9.
3. Da Silva O, Ohlsson A, Kenyon C. *Accuracy of leukocyte indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal sepsis: a critical review*. *Pediatr Infect Dis J*. 1995;14:362-6.
4. Ng PC. *Diagnostic markers of infection in neonates*. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004;89:F229-35.
5. Gerdes JS. *Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate*. *Pediatr Clin North Am*. 2004;51:939-59, viii-ix.
6. Gerdes JS. *Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis*. *Clin Perinatol*. 1991;18:361-81.
7. Caldas JP, Marba ST, Blotta MH, Calil R, Morais SS, Oliveira RT. *Accuracy of white blood cell count, C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha for diagnosing late neonatal sepsis*. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84:536-42.
8. Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim M, Oh SY, Kim CJ, et al. *The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis*. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183:1124-9.
9. Waage A, Halstensen A, Espevik T. *Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease*. *Lancet*. 1987;1:355-7.
10. Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, Alegre M, Kahn RJ, Dupont E. *Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality*. *Chest*. 1993;103:565-75.
11. Silveira RC, Procianoy RS. *Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis*. *Acta Paediatr*. 1999;88:647-50.
12. Meadow W, Rudinsky B. *Inflammatory mediators and neonatal sepsis. Rarely has so little been known by so many about so much*. *Clin Perinatol*. 1995;22:519-36.

13. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis*. 2000;181:176-80.
14. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*. 1997;112:235-43.
15. Doughty L, Carcillo JA, Kaplan S, Janosky J. The compensatory anti-inflammatory cytokine interleukin 10 response in pediatric sepsis-induced multiple organ failure. *Chest*. 1998;113:1625-31.
16. Taniguchi T, Koido Y, Aiboshi J, Yamashita T, Suzuki S, Kurokawa A. Change in the ratio of interleukin-6 to interleukin-10 predicts a poor outcome in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*. 1999;27:1262-4.
17. Goldstein B, Giroir B, Randolph A; International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6:2-8.
18. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr*. 1988;112:761-7.
19. Pissetti CW, Correia D, Braga T, Faria GE, Oliveira RF, Ribeiro BM, et al. Associação entre os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, óxido nítrico e os isotipos de IgG específicos nas formas clínicas da doença de Chagas crônica. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42:425-30.
20. Oddie S, Embleton ND. Risk factors for early onset neonatal group B streptococcal sepsis: case-control study. *BMJ*. 2002;325:308.
21. Goulart AP, Valle CF, Dal-Pizzol F, Cancelier AC. Fatores de risco para o desenvolvimento de sepse neonatal precoce em hospital da rede pública do Brasil. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2006;18:148-53.
22. Stoll BJ. The global impact of neonatal infection. *Clin Perinatol*. 1997;24:1-21.
23. Benitz WE. Perinatal treatment to prevent early onset group B streptococcal sepsis. *Semin Neonatol*. 2002;7:301-14.
24. Carvalho PR, Trotta Ede A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79 Suppl 2:S195-204.
25. Waeschle RM, Moerer O, Hilgers R, Herrmann P, Neumann P, Quintel M. The impact of the severity of sepsis on the risk of hypoglycaemia and glycaemic variability. *Crit Care*. 2008;12:R129.
26. Silveira RS, Procianny RS. Sepse neonatal precoce: diagnóstico e conduta. PRORN - ciclo 2, módulo 3. Porto Alegre: Artmed/Panamericana Editora; 2003.
27. Bomela HN, Ballot DE, Cory BJ, Cooper PA. Use of C-reactive protein to guide duration of empiric antibiotic therapy in suspected early neonatal sepsis. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:531-5.
28. Sabel KG, Wadsworth C. C-reactive protein (CRP) in early diagnosis of neonatal septicemia. *Acta Paediatr Scand*. 1979;68:825-31.
29. Küster H, Weiss M, Willeitner AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet*. 1998;352:1271-7.
30. Ceccon ME. Análise do uso das interleucinas 6 e 8 e proteína C reativa para diagnóstico e seguimento terapêutico de recém-nascidos com sepse tardia internados na unidade de cuidados intensivos neonatais [tese livre docência]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.

## Correspondência:

Juliana R. Machado  
Getúlio Guaritá, s/nº  
CEP 38025-440 – Uberaba, MG  
Tel.: (34) 3318.5299  
Fax: (34) 3318.5651  
E-mail: julianareismachado@yahoo.com.br