

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„IULIU HAȚIEGANU”  
FACULTATEA DE MEDICINĂ CLUJ-NAPOCA



# TEZĂ DE DOCTORAT

VALOAREA PREDICTIVĂ A TESTELOR  
BACTERIENE, BIOCHIMICE ȘI  
IMUNOLOGICE ÎN DIAGNOSTICUL  
SEPSISULUI NEONATAL.  
RELAȚIA CU VÂRSTA GESTAȚIONALĂ.

REZUMAT

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC  
PROF.DR. ANTONIA POPESCU

DOCTORAND  
DR. OANA-IULIA ȘERBAN

2009

## CUPRINS

### INTRODUCERE

#### I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

<b>CAPITOLUL 1. SEPSISUL BACTERIAN LA NOU-NĂSCUT.....</b>	<b>1</b>
1.1. Scurt istoric al sepsisului .....	1
1.2. Definiția sepsisului .....	2
1.3. Clasificarea sepsisului .....	3
1.4. Patogeneza, căile de infecție și factorii de risc în sepsisul neonatal.....	5
1.5. Epidemiologia și incidența sepsisului neonatal precoce în corelație cu greutatea și vârsta gestațională .....	7
1.6. Etiologia sepsisului .....	10
1.6.1. Etiologia sepsisului neonatal precoce.....	10
1.6.2. Etiologia sepsisului cu debut tardiv .....	17
1.6.3. Etiologia sepsisului cu debut extrem de tardiv .....	20
1.7. Tabloul clinic al sepsisului neonatal .....	29
1.8. Screeningul sepsisului neonatal .....	31
1.8.1. Screeningul sepsisului la nou-născutul simptomatic .....	31
1.8.2. Screeningul sepsisului la nou-născutul asimptomatic cu vârstă gestațională mai mare de 35 de săptămâni.....	32
1.8.3. Screeningul sepsisului la nou-născutul asimptomatic cu vârstă gestațională mai mică de 35 de săptămâni și prezența a mai mult de un factor de risc .....	33
1.9. Diagnosticul de laborator al sepsisului neonatal .....	34
1.9.1. Teste bacteriologice .....	34
1.9.2. Teste nespecifice de diagnostic a sepsisului neonatal .....	36
1.9.3. Markerii imunologici și biochimici utili în diagnosticul sepsisului neonatal .....	37
1.10. Tratamentul sepsisului neonatal.....	40
1.11. Complicașii ale sepsisului neonatal.....	42
1.12. Evoluție și prognostic .....	45
<b>CAPITOLUL 2. PARTICULARITĂȚI IMUNOLOGICE LA NOU-NĂSCUT ȘI</b>	
<b>IMPLICAȚIILE ACESTORA ÎN SEPSISUL NEONATAL .....</b>	<b>46</b>
2.1. Imunitatea mediată celular .....	47
2.2. Imunitatea mediată umoral.....	49

## II. CONTRIBUȚII PERSONALE

<b>CAPITOLUL 3. IPOTEZA DE LUCRU .....</b>	<b>54</b>
<b>3.1. Premize.....</b>	<b>54</b>
<b>3.2. Motivația cercetării .....</b>	<b>55</b>
<b>CAPITOLUL 4. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI .....</b>	<b>56</b>
<b>CAPITOLUL 5. MATERIAL ȘI METODĂ.....</b>	<b>57</b>
<b>5.1. Tehnici de laborator .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1.1. Tehnici bacteriologice .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1.2. Tehnici hematologice.....</b>	<b>59</b>
<b>5.1.3. Tehnici pentru reactanții de fază acută.....</b>	<b>61</b>
<b>5.1.4. Tehnici imunologice.....</b>	<b>61</b>
<b>5.1.5. Tehnici imunocromatografice .....</b>	<b>65</b>
<b>5.1.6. Metoda ELISA .....</b>	<b>67</b>
<b>5.2. Metode statistice .....</b>	<b>69</b>
<b>CAPITOLUL 6. STUDIU PROSPECTIV DE EVALUARE A FACTORILOR DE RISC PENTRU SEPSISUL NEONATAL .....</b>	<b>72</b>
<b>6.1. Ipoteza de lucru .....</b>	<b>72</b>
<b>6.2. Obiectivele studiului.....</b>	<b>73</b>
<b>6.3. Material și metodă.....</b>	<b>73</b>
<b>6.4. Rezultate.....</b>	<b>75</b>
<b>6.4.1. Rezultate ale evaluării factorilor de risc matern .....</b>	<b>75</b>
<b>6.4.2. Rezultate ale evaluării factorilor de risc fetal și neonatali .....</b>	<b>78</b>
<b>6.5. Discuții.....</b>	<b>93</b>
<b>6.6. Concluzii.....</b>	<b>100</b>
<b>CAPITOLUL 7. MARKERI BACTERIENI, HEMATOLOGICI ȘI BIOCHIMICI CA FACTORI DE PREDICȚIE AI SEPSISULUI NEONATAL.....</b>	<b>101</b>
<b>7.1. Ipoteza de lucru .....</b>	<b>101</b>
<b>7.2. Obiectivele studiului.....</b>	<b>102</b>
<b>7.3. Material și metodă.....</b>	<b>102</b>
<b>7.4. Rezultate.....</b>	<b>103</b>
<b>7.5. Discuții.....</b>	<b>112</b>
<b>7.6. Concluzii.....</b>	<b>119</b>

**CAPITOLUL 8. ASPECTE ALE IMUNITĂȚII UMORALE LA NOU-NĂSCUT CA**

**FACTOR DE RISC PENTRU SEPSIS NEONATAL.**

**RELAȚIA CU VÂRSTA GESTAȚIONALĂ ..... 121**

**8.1. Ipoteza de lucru ..... 121**

**8.2. Obiectivele studiului..... 122**

**8.3. Material și metodă..... 122**

**8.4. Rezultate înregistrate la loturile de nou-născuți ..... 124**

**8.5. Rezultate înregistrate la loturile de pacienți adulți..... 141**

**8.6. Discuții..... 151**

**8.7. Concluzii..... 162**

**CONCLUZII GENERALE ..... 165**

**PROTOCOL DE DIAGNOSTIC AL SEPSISULUI CU DEBUT PRECOCE LA**

**NOU-NĂSCUT ..... 169**

**REFERINȚE ..... 170**

# INTRODUCERE

Sepsisul este o entitate clinică a cărei manifestări sunt variate și nespecifice la nou-născut, mai ales la nou-născutul prematur. De asemenea, reprezintă o cauză importată de morbiditate și mortalitate la această categorie de vârstă.

Din cauza gravității evoluției sale, sepsisul neonatal s-a regăsit în ultima perioadă între preocupările medicilor neonatologi și nu numai. Tratatamentul sepsisului neonatal rămâne o provocare, acest lucru în condițiile în care, în ultima perioadă, au fost înregistrate progrese remarcabile în terapie, fundamentate pe o mai bună înțelegere a patogenezei sepsisului.

În aceste condiții, evaluarea unor teste de laborator uzuale sau a unor markeri mai rar utilizați în practica medicală se impune în vederea diagnosticării rapide a sepsisului neonatal. Acestea vin să completeze tabloul clinic, ajutând la orientarea corectă a conduitei terapeutice.

Adresez pe această cale sincere mulțumiri și gânduri de recunoștință, D-nei Prof. Dr. Antonia Popescu, pentru încrederea acordată în cercetarea acestei teme și îndrumarea deosebit de competentă pe tot parcursul pregătirii pentru doctorat și elaborarea tezei;

D-nei Prof. Dr. Gabriela Zaharie, D-nei Șef de Lucrări Dr. Ligia Blaga, personalului medical al Clinicilor Ginecologie I și II pentru sprijinul acordat în alegerea cazurilor incluse în acest studiu;

Părinților mei pentru înțelegere și sprijin.

## **I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII**

Sepsisul este o entitate clinică ale cărei manifestări sunt variate și nespecifice la nou-născut, mai ales la nou-născutul prematur. De asemenea, reprezintă o cauză importată de morbiditate și mortalitate la această categorie de vârstă.

Tratamentul sepsisului neonatal rămâne o provocare, în condițiile în care, în ultima perioadă, au fost înregistrate progrese remarcabile în terapie, fundamentate pe o mai bună înțelegere a patogenezei sepsisului și opozibilităților de diagnostic.

Evaluarea unor teste de laborator uzuale sau a unor markeri mai rar utilizați în practica medicală se impune în vederea diagnosticării rapide a bolii.

În prima parte a tezei ce cuprinde informațiile teoretice, sunt prezentate: definiția, clasificarea, patogeneza, etiologia, tabloul clinic, diagnosticul prin teste uzuale de laborator, dar și prin utilizarea unor markeri imunologici serici mai puțin întâlniți în practica clinică (imunoglobulinele serice, fracțiunile C3, C4 ale complementului, procalcitonina și interleukina-6).

În capitolul următor sunt prezentate particularitățile imunologice ale nou-născutului și implicațiile acestora în sepsisul neonatal.

## **II. CONTRIBUȚII PERSONALE**

### **IPOTEZA DE LUCRU**

Lipsa semnelor clinice evidente de boală în sepsisul neonatal, a impus implementarea în practică, a numeroase și variate teste de laborator, unele uzuale, altele necesitând echipament special de laborator și personal calificat.

Atât în România cât și în statele dezvoltate, diagnosticul rapid al sepsisului are la bază în principal examenul clinic atunci când semnele clinice sunt elocvente precum și testele de laborator ce investighează markeri bacterieni, hematologici, biochimici și imunologici. Nu există teste de laborator cu valoare exhaustivă în predicția sepsisului neonatal.

### **SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI**

Scopul studiului de față îl constituie îmbunătățirea diagnosticului sepsisului neonatal cu precădere la nou-născutul prematur dar și la cel la termen.

Obiectivele studiului au fost reprezentate de: investigarea serologică pentru sepsis neonatal a unui lot de nou-născuți; analiza comparativă a gradului de sensibilitate a fiecărui marker în prevederea stării de sepsis; diagnosticarea precoce a sepsisului neonatal în vederea instituirii rapide a tratamentului adecvat; cuantificarea datelor obținute în vederea stabilirii relației între incidența sepsisului la nou-născuți și vârsta gestațională a acestora, a aprecierii relației între factorii de risc și prezența sepsisului, a estimării gradului de concordanță între markerii serologici imunologici și prezența stării de sepsis.

Un ultim obiectiv a fost reprezentat de întocmirea unui protocol de diagnostic de laborator cu sensibilitate și specificitate optime și cât mai avantajos din punct de vedere economic.

### **MATERIALUL ȘI METODA DE LUCRU**

Am efectuat un studiu prospectiv asupra unui număr de 66 nou-născuți (25 de nou-născuți sănătoși-lot martor; 41 de nou-născuți cu infecție posibilă și infecție dovedită clinic) cu vârste gestaționale cuprinse între 27 și 42 de săptămâni.

Pentru unele determinări precum fracțiunile C3 și C4 ale complementului, procalcitonina și interleukina-6 a fost investigat în paralel un lot de 35 subiecți adulți cu boli neoplazice (15 adulți sănătoși; 20 adulți cu sepsis dovedit) internați în Institutul Oncologic Cluj-Napoca.

Diagnosticul de laborator a inclus pentru loturile de nou-născuți hemocultura (sistem Biomerieux) hemoleucograma, tabloul sanguin, determinarea proteinei C-reactive (imunoturbidimetrie), a fracțiilor C3 și C4 ale complementului (imunoturbidimetrie), procalcitoninei (imunocromatografie) și a Il-6 (ELISA), iar pentru loturile de pacienți adulți au fost investigate fracțiunile C3 și C4 ale complementului, procalcitonina, Il-6.

Determinarea Il-6 s-a realizat prin metoda Quantikine Il-6 Immunoassay (ELISA) cu ajutorul kiturilor Quantikine Immunoassay (R&D Systems).

Analiza datelor statistice s-a realizat cu ajutorul programelor Analyse și StatsDirect. Testele statistice utilizate au fost testul Wilcoxon, testul de corelație Spearman, iar pentru evaluarea distribuției valorilor s-a utilizat histograma.

## REZULTATE

Capitolul 6 reprezintă un studiu prospectiv de evaluare a factorilor de risc pentru sepsis neonatal efectuat pe un lot selectat de 66 nou-născuți internați în Clinicile Ginecologie I și II din Cluj-Napoca, Maternitatea Brașov, în perioada 2006-2008, la care au fost evaluați factorii de risc pentru sepsis neonatal.

În Figura 7 sunt prezentați factorii de risc materni prezenți la subiecții lotului martor de nou-născuți (nou-născuți fără sepsis).

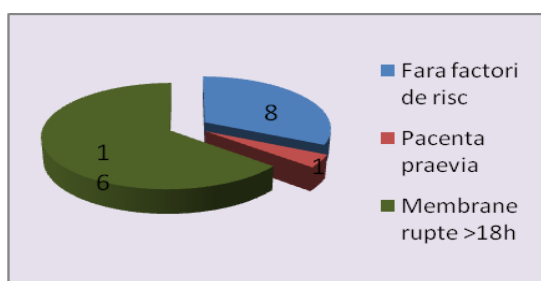


Figura 7. Factorii de risc materni la lotul martor de nou-născuți

În Figura 8 sunt reprezentați factorii de risc materni pentru nou-născuții din lotul celor care prezintă semne clinice de sepsis fără o confirmare a bolii prin pozitivarea hemoculturilor.

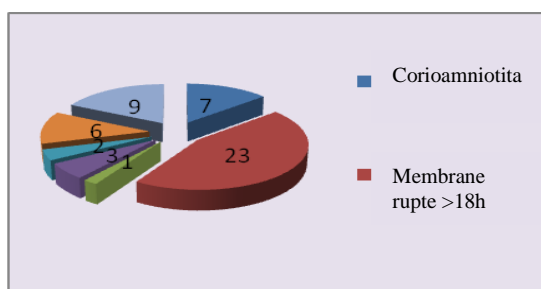


Figura 8. Factori de risc implicați în declanșarea sepsisului la nou-născuții presupus infectați

În Figura 9 sunt prezentați factorii de risc materni identificați la lotul de nou-născuți cu sepsis dovedit clinic și paraclinic.

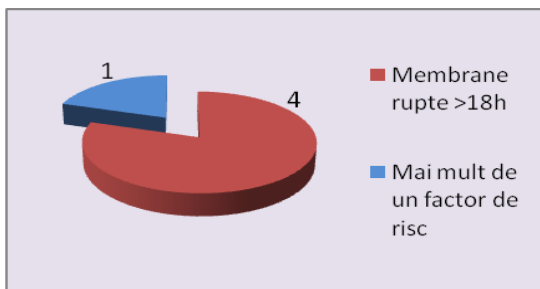


Figura 9. Factori de risc materni implicați în declanșarea sepsisului la nou-născuții cu sepsis dovedit

În continuare au fost evaluați factorii de risc fetal și neonatali. În primul rând a fost evaluată distribuția pe sexe a nou-născuților aparținând loturilor studiate. Aceste aspecte sunt evidențiate în figurile 10 și 11.

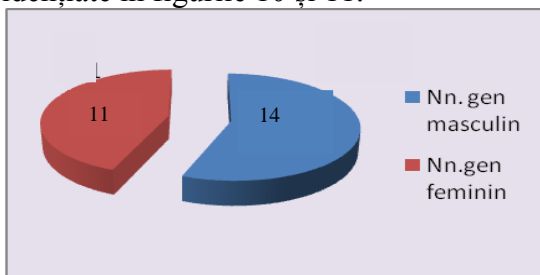


Figura 10. Distribuția pe sexe a nou-născuților neinfecțați (lot martor)

Majoritatea nou-născuților (14 respectiv 24) sunt de sex masculin atât în cazul lotului martor cât și în cazul loturilor de studiu.

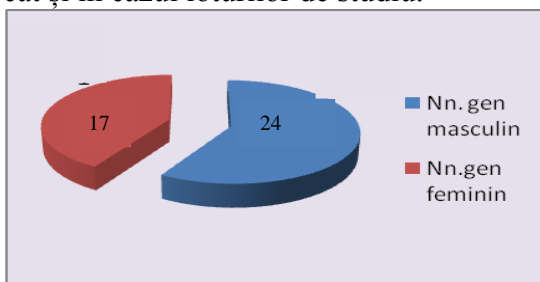


Figura 11. Distribuția pe sexe a nou-născuților infectați și posibil infectați

Principalii factori de risc la sepsis, fetal și neonatali, sunt reprezentați de sexul masculin, greutatea scăzută la naștere (sub 2500g), vârsta gestațională sub 37 săptămâni și asfixia neonatală evaluată prin scorul APGAR.

Acești factori de risc au fost analizați în continuare pentru fiecare lot de nou-născuți.

Primul luat în discuție a fost parametrul greutate pentru fiecare dintre loturi și distribuția sa în funcție de subcategoriile:  $G \geq 2500g$ ;  $G > 1500 - < 2500g$ ;  $G = 1000 - 1500g$ ;  $G < 1000g$ .

Un alt parametru considerat factor de risc pentru sepsisul neonatal este vârsta gestațională mică. Pentru fiecare lot de nou-născuți se va analiza distribuția astfel:  $VG < 30S$ ;  $VG = 30 - 34S$ ;  $VG = 35 - 36S$ ;  $VG > 36S$ . (Fig.19, Fig.22, Fig.23).

Vârsta gestațională medie a nou-născuților din lotul martor (total 25 de subiecți) a fost de 31.2 săptămâni.

În cazul nou-născuților cu infecție dovedită (total 5 subiecți), vârsta gestațională medie a fost de 35 de săptămâni. Lotul de nou-născuți presupus infectați (36 nou-născuți-27 prematuri și 9 nou-născuți la termen) a prezentat o vârstă gestațională medie de 34.94 săptămâni.



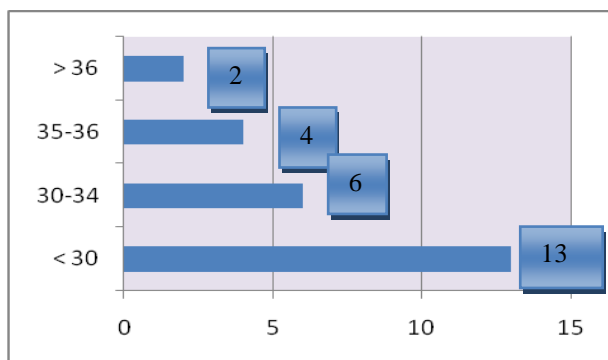


Figura 19. Vârsta gestațională a nou-născuților ce fac parte din lotul de nou-născuți neinfecțați

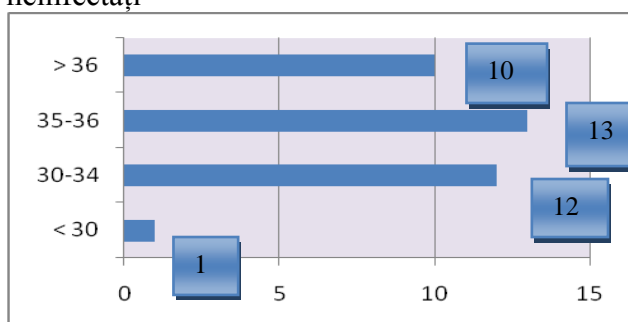


Figura 22. Vârsta gestațională a nou-născuților ce fac parte din lotul de nou-născuți posibil infecțați

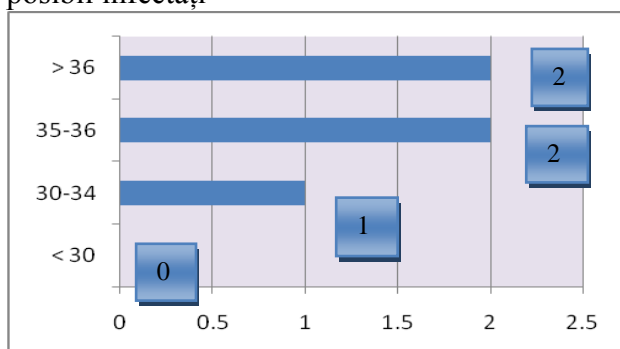


Figura 23. Vârsta gestațională a nou-născuților ce fac parte din lotul de nou-născuți infecțați

Ultimul parametru luat în discuție ca factor de risc pentru sepsisul neonatal este scorul APGAR la 5 minute după naștere. Acesta a fost discutat și comparat pentru fiecare dintre loturile studiate. S-a efectuat din considerente statistice și practice o divizare a categoriilor de nou-născuți în funcție de scorul APGAR, astfel: nou-născuți cu scor APGAR >7 respectiv  $\leq 7$ , în funcție de prezența sau absența asfexiei neonatale (Fig.29, Fig.30).

Nou-născuții ce fac parte din lotul martor au prezentat majoritatea (21 de cazuri din 25- 84%) un scor APGAR > 7; 4 nou-născuți (16%) au avut scorul APGAR  $\leq 7$ .

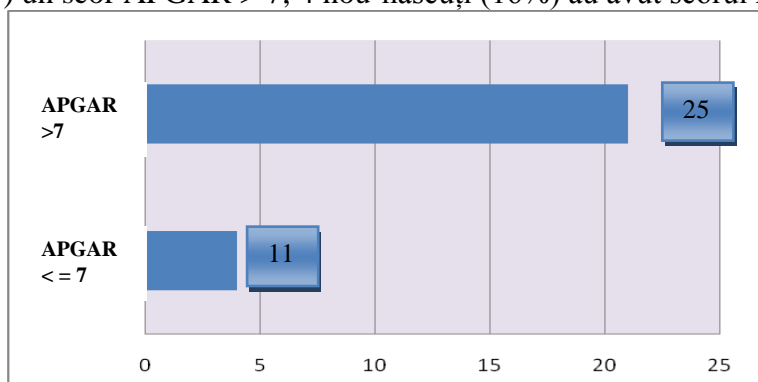


Figura 29. Scorul APGAR al nou-născuților ce fac parte din lotul de nou-născuți presupus infecțați

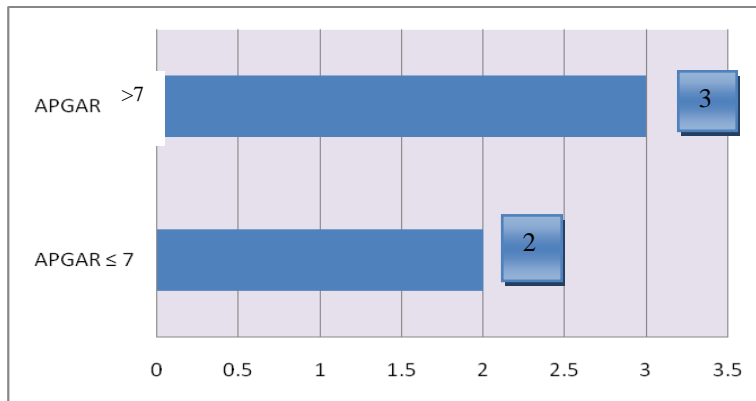


Figura 30. Scorul APGAR al nou-născuților ce fac parte din lotul de nou-născuți cu infecție dovedită

În capitolul 7 au fost luați în discuție markerii bacteriologici, hematologici și biochimici ca factori de predicție ai sepsisului neonatal.

Au fost înregistrate hemoculturi pozitive doar în cazul a 5 nou-născuți: 4 nou-născuți (80%) au fost infectați cu bacterii Gram-negative (3-*Klebsiella* spp. și 1-*E.coli*). Într-un singur caz infecția a fost cauzată de o tulpină de *Staphylococcus aureus* (20%).

Un alt parametru luat în discuție în această secțiune a fost reprezentat de valoarea comparativă a leucocitelor respectiv a neutrofilelor la fiecare dintre loturile de nou-născuți. La lotul martor (25 de nou-născuți) au fost înregistrate 23 de cazuri cu valori normale ale leucocitelor respectiv neutrofilelor (92%); unul dintre nou-născuți a prezentat leucocitoză și un altul leucopenie.

În figura 34 se prezintă distribuția valorilor leucocitelor și a cunantumului neutrofilelor la nou-născuții din lotul cu infecție posibilă și infecție dovedită.

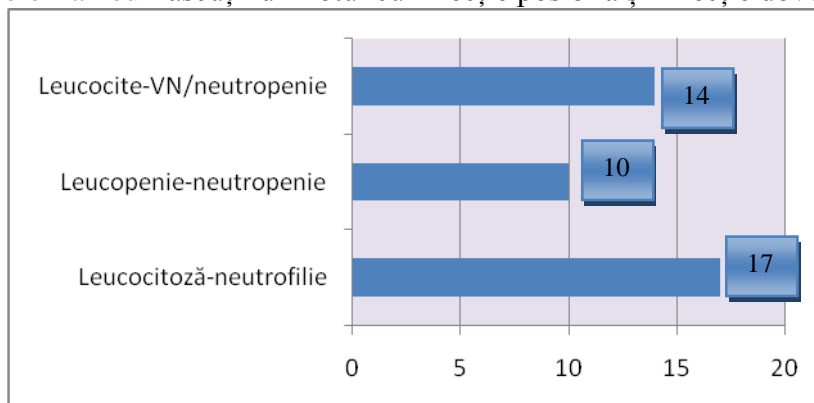


Figura 34. Distribuția valorilor leucocitelor și a cunantumului neutrofilelor la nou-născuții din lotul cu infecție posibilă și infecție dovedită

In continuare a fost evaluat raportul dintre numărul neutrofilelor imature și numărul total de neutrofile (Figurile 36, 38).

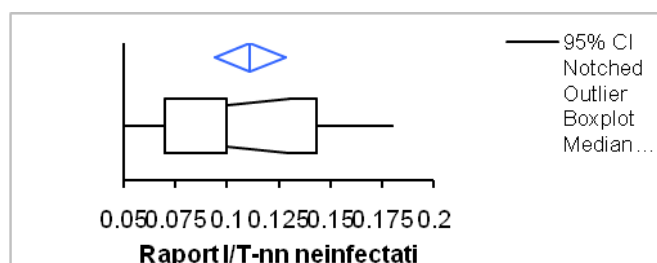


Figura 36. Graficul distribuției raportului I/T în cadrul lotului martor de nou-născuți

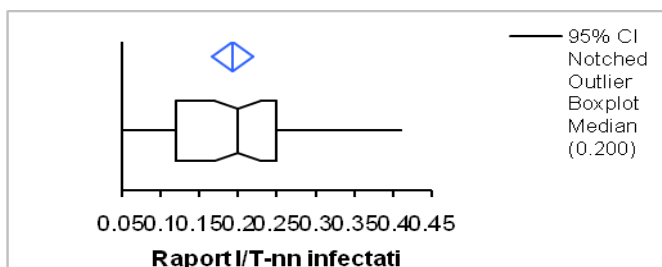


Figura 38. Graficul distribuției raportului I/T în cadrul lotului de nou-născuți infectați și posibil infectați

Au fost calculați pentru proteina C-reactivă parametrii sensibilitate, specificitate, valoare predictivă pozitivă și valoare predictivă negativă. Aceștia au prezentat următoarele valori:

- sensibilitate → 82%;
- specificitate → 79%
- valoare predictivă pozitivă → 86%
- valoare predictivă negativă → 73%

Aria calculată a perimetrului situat sub curba ROC a înregistrat valoarea de 0.13.

S-a calculat coeficientul de corelație Spearman între CRP și vârsta gestațională. Acesta a prezentat valoarea de 0.8264 (corelație foarte bună) (95%CI= -0.28 - 0.34)

În capitolul 8 au fost evaluați parametrii IgG, IgA, IgM, fracțiunile C3 și C4 ale complementului, procalcitonina și Il-6 din perspectiva valorii lor diagnostice și a corelației cu vârsta gestațională.

Corelația Spearman între IgG și VG a nou-născuților este prezentată în graficul de mai jos. Valoarea corelației Spearman a fost 0.66 (95%CI=0.49-0.77; t statistic=6.95; 2-tailed p<0.0001)

Pentru studiul capacității IgM de a prevedea starea de sepsis a fost trasată curba ROC pentru toți nou-născuții studiați. Aspectul acesteia este redat în Figura 55.

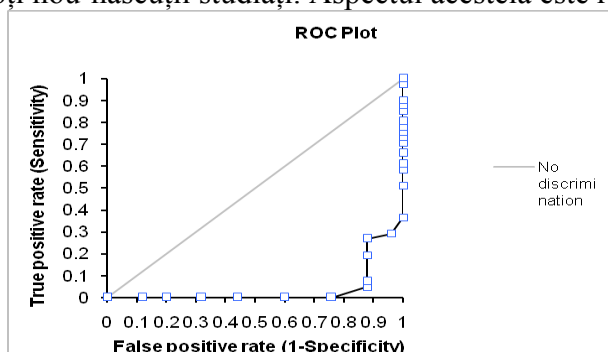


Figura 55. Curba ROC a IgM-nou-născuți

Aria situată sub această curbă a prezentat valoarea de 0.04.

Utilizând corelația Spearman s-a calculat gradul de corelație al IgM cu vârsta gestațională a nou-născuților. Gradul de corelație obținut este de 0.45 (95%CI=0.23 to 0.62; t statistic=4.00; 2-tailed p=0.0002)

În Figura 56 se observă că din totalul de 66 de nou-născuți luați în discuție doar la 24% dintre ei a putut fi detectat nivelul de IgA, aspect concordant cu datele din literatura de specialitate.

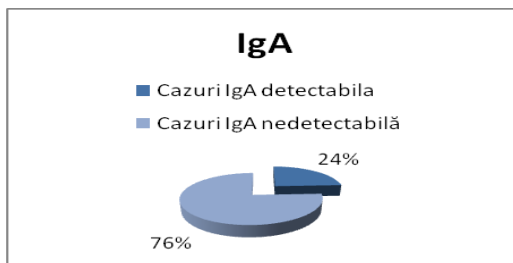


Figura 56. Valori detectabile vs.nedetectabile ale IgA în cazul tuturor nou-născuților

În continuare a fost urmărit comportamentul fracțiunilor C3 și C4 a complementului pentru lotul martor de nou-născuți și pentru loturile studiu.

Aria corespunzătoare curbei ROC pentru fracțiunea C3 a complementului este de 0.88, iar cea a fracțiunii C4 a complementului -- 0.80.

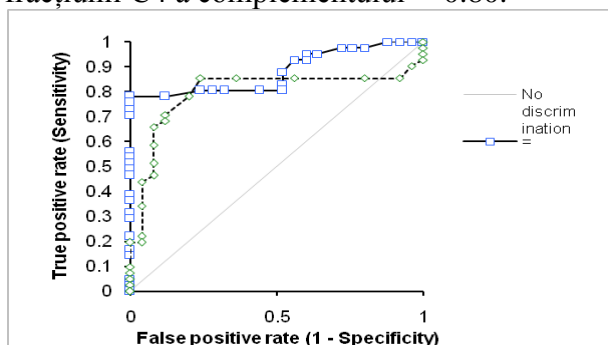


Figura 65. Curbele ROC – C3 și C4 nou-născuți

În graficele următoare va fi analizată procalcitonina, ca posibil marker de detectare precoce a sepsisului. În figura 67 sunt prezentate valorile procalcitoninei corespunzătoare nou-născuților cu infecție dovedită sau probabilă (Figura 67).

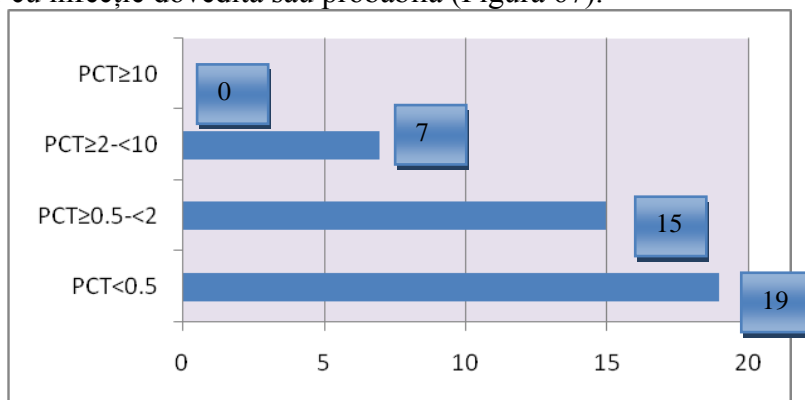


Figura 67. Intervale ale valorilor procalcitoninei înregistrate la lotul de nou-născuți infectați și posibil infectați

În Figura 72 a fost trasată curba ROC corespunzătoare valorilor Il-6 înregistrate la loturile de nou-născuți. Aria corespunzătoare acestei curbe a fost 0.31.

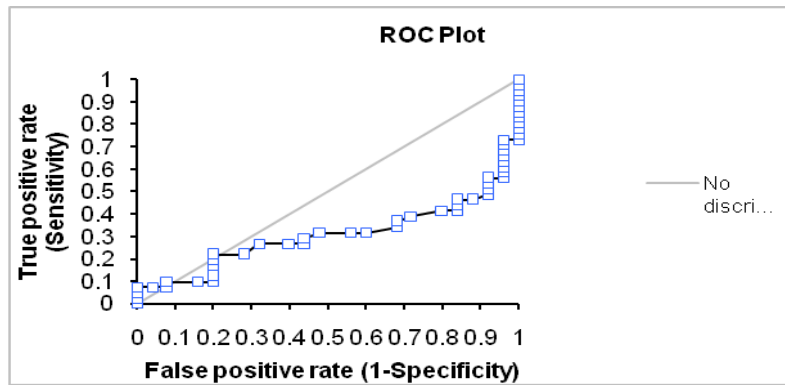


Figura 72. Curba ROC – Il-6 nou-născuți

Valorile ariilor situate sub curba ROC pentru fracțiunile C3 și C4 ale complementului la pacienții adulți prezintă valoare diagnostică ridicată. Pentru C3 valoarea este de 0.98, iar pentru C4- 0.73, ușor mai scăzută.

În cazul lotului martor de adulți (adulți fără sepsis) toate valorile procalcitoninei s-au situat sub nivelul de 0.5ng/ml.

În cazul lotului de pacienți adulți cu sepsis se observă că valorile procalcitoninei care ar putea orienta asupra diagnosticului sunt distribuite, majoritatea, în intervale  $\geq 0.5$ ng/ml (65%, 13 cazuri din 20).

Comparativ cu loturile de nou-născuți se observă o mai mare acuratețe a procalcitoninei în stabilirea diagnosticului de sepsis în cazul lotului de adulți decât în cazul nou-născuților.

## CONCLUZII

1. Ruperea prematură și prelungită a membranelor constituie factorul de risc cel mai frecvent implicat în declanșarea sepsisului la nou-născut.
2. Nou-născuții de sex masculin sunt cel mai frecvent întâlniți atât în cazul lotului martor cât și în cazul nou-născuților cu infecție presupusă și dovedită, ceea ce indică o posibilă predispoziție a acestora pentru sepsis.
3. Atât nou-născuții din lotul martor cât și cei din lotul de studiu au prezentat o vârstă gestațională medie mai mică de 37 de săptămâni, ceea ce indică o preponderență a nou-născuților prematuri.
4. Media scorului APGAR al nou-născuților din lotul martor s-a situat la o valoare de 8.48, superioară valorii scorului în cazul celorlalte două loturi, ceea ce indică o lipsă a asfexiei neonatale la lotul martor de nou-născuți.
5. Principalul marker biologic de diagnostic al sepsisului neonatal este hemocultura.
6. În studiul de față cei 5 nou-născuți din lotul la risc (41 de nou-născuți) au prezentat hemoculturi pozitive (12.195%) germeii implicați fiind *Klebsiella spp.*(3 cazuri), *Escherichia coli* (1 caz) și *Staphylococcus aureus* (1 caz).
7. Referitor la indicii leucocitari prezența leucocitozei cu neutrofilie s-a constatat la 17 (41.46%) subiecți din lotul la risc . Un număr de 10 (24.39%) subiecți au prezentat leucopenie cu neutropenie.
8. Leucopenia cu neutropenie a fost prezentă la toți cei 5 nou-născuți cu sepsis confirmat.
9. Raportul neutrofile imature/număr total de neutrofile pentru nou-născuții cu infecție dovedită a prezentat valori mai mari decât 0.2 pentru 80% dintre subiecți, sugerând debutul unei infecții. Valoare predictivă pozitivă a fost de 100% iar cea predictivă negativă de 60.9%.
10. Trombocitopenia apare doar în fazele avansate ale bolii în prezența coagulării intravasculare diseminate, în studiul de față înregistrându-se doar la doi pacienți cu trombocitopenie ( $<100.000/\mu\text{l}$ ), acest aspectul fiind concordant cu datele din literatură.
11. Pentru proteina C-reactivă (CRP), datele din literatură susțin creșterea valorilor acesteia precoce în infecția neonatală. În studiul nostru parametrii sensibilitate

(82%), specificitate (79%), valoare predictivă pozitivă (86%) și valoare predictivă negativă (73%) dovedesc valoare prognostică pentru sepsisul neonatal, comparabil cu raportul I/T.

12. În studiul nostru se înregistrează valori comparabile ale sensibilității și valorii predictive pozitive ale I/T și CRP.
13. Între valorile proteinei C-reactive și vârsta gestațională a nou-născuților s-a înregistrat o foarte bună corelație (corelația Spearman): 0.8264.
14. Corespunzător valorilor proteinei C-reactive aria situată sub curba ROC a fost de 0.13, ceea ce indică o slabă valoare diagnostică a acestui marker inflamator.
15. Valorile IgG se corelează cu vârsta gestațională a nou-născuților. Coeficientul de corelație Spearman a prezentat valoarea 0.66 (grad mediu de corelație).
16. Valorile IgG nu se corelează cu greutatea la naștere a nou-născuților, indicele de corelație Spearman fiind stabilit la valoarea de 0.39 (lipsă de corelație).
17. Nu s-au constatat modificări semnificative statistic între loturile de nou-născuți sănătoși și nou-născuții cu sepsis confirmat sau presupus în ceea ce privește valorile IgG ceea ce indică faptul că IgG nu suferă modificări considerabile în condiții de boală.
18. Valorile IgM la loturile de nou-născuți cu sepsis confirmat sau presupus sunt superioare celor înregistrate la lotul martor de nou-născuți (valoare medie 40.1 mg/dl în comparație cu 29.5 mg/dl).
19. Valorile IgM nu se corelează cu vârsta gestațională a nou-născuților.
20. Valoarea diagnostică a IgM determinată cu ajutorul curbei ROC este scăzută.
21. IgA este nedetectabilă într-un procent crescut de cazuri ceea ce confirmă datele din literatură ce plasează începutul secreției sale postnatal, între săptămânile 3 și 4 de viață extrauterină.
22. Valorile fracțiunii C3 a complementului înregistrate la lotul de nou-născuți infectați și presupus infectați sunt superioare celor înregistrate la lotul martor de nou-născuți. Acest fapt indică o dependență a fracțiunii C3 a complementului de prezența sepsisului.
23. Fracțiunea C4 a complementului a înregistrat valori superioare în cazul nou-născuților cu infecție dovedită sau presupusă față de nou-născuții sănătoși.
24. Valoarea diagnostică a fracțiunilor C3 și C4 ale complementului, apreciată cu ajutorul curbei ROC a fost superioară tuturor celorlalți markeri de diagnostic.
25. Procalcitonina nu poate reprezenta singură marker de diagnostic al sepsisului.
26. Valoarea diagnostică a Il-6 determinată cu ajutorul curbei ROC este scăzută.
27. Comparativ, între nou-născuți și adulți se observă că aria situată sub curba ROC pentru valoarea fracțiunii C3 a complementului este mai mare în cazul pacienților adulți.
28. Pentru fracțiunea C4 a complementului valoarea ariei situate sub curba ROC este mai mică în cazul pacienților adulți decât în cazul nou-născuților.
29. În cazul lotului martor de pacienți adulți toate valorile procalcitoninei sunt distribuite sub valoarea de 0.5 ng/ml.
30. În cazul lotului de pacienți adulți cu sepsis se observă că valorile procalcitoninei care ar putea orienta asupra diagnosticului sunt distribuite în majoritate în intervale  $\geq 0.5$  ng/ml (65%).
31. Comparativ cu loturile de nou-născuți se observă o mai mare acuratețe a procalcitoninei în stabilirea diagnosticului de sepsis în cazul lotului de adulți decât în cazul nou-născuților.
32. S-a constatat că valoarea diagnostică a Il-6 este superioară în cazul pacienților adulți față de nou-născuți.
33. Pentru markerii tratați în această lucrare se observă că valoarea diagnostică cea mai ridicată corespunde fracțiunii C3 a complementului, urmată de fracțiunea C4 a complementului, Il-6 și în final de IgM.

34. Corelația între diferiții markeri biologici tratați în această lucrare și vârsta gestațională a nou-născuților există următoarea relație: corelație foarte bună (indice de corelație 0.82) pentru proteina C-reactivă; corelație medie (indice de corelație 0.66) pentru IgG; corelații scăzute pentru fracțiunea C3 a complementului (indice de corelație 0.47), IgM (indice de corelație 0.45), C4 (indice de corelație 0.304), Il-6 (indice de corelație 0.18)
35. Gradul de predicție a sepsisului de către markerii luați în discuție, evaluat cu ajutorul curbei ROC prin calcularea ariei situate sub aceasta (test Wilcoxon) s-a prezentat astfel: valoare diagnostică ridicată fracțiunile C3 și C4 ale complementului (arii 0.88 respectiv 0.8), valoare diagnostică scăzută pentru Il-6 (0.31), proteina C-reactivă (0.13), IgM (0.04).

#### REFERINȚE-SELECTIV

1. Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taesch HW, Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Avery's Diseases of the Newborn, 8th Ed., Ed. W.B. Saunders Co.; 2004;p: 551-2
3. Kaufman D, Fairchild KD, Clinical Microbiology of Bacterial and Fungal Sepsis in Very-Low-Birth Infants.Clin.Microbio.Rev.2004; 17(3): 1-120
12. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am.* 2004; 51(4):939-59.
15. Ronnestad A, Abrahamsen TG, Medbo S. Septicemia in the first week of life in a Norwegian national cohort of extremely premature infants. *Pediatrics* 2005; 115:262-8.
16. Chacko B, Sohi I. Early onset neonatal sepsis. *Indian J.Pediatr.* 2005; 72(1):23-6.
28. Soto SM, Bosch J, Jimenez de Anta M T, Vila J. Comparative study of virulence traits of Escherichia coli clinical isolates causing early and late neonatal sepsis. *J. Clin.Microbiol.* 2008; 46(3):1123-5.
38. Purificacion Tumbaga F, Alistair G.S. P. Guidelines 1-07: Evaluation and Management of Asymptomatic Newborns Born at  $\geq 35$  wks Gestation at Risk for Early Onset Neonatal Sepsis.NeoReviews.2006; 7(10): e524
45. Renato Couto C, Barbarosa AAJ, Pedrosa MGT, Biscione FM. C-Reactive protein-Guided approach may shorten length of antimicrobial treatment of culture-proven late onset sepsis. An Intervention Study. *Braz.J.Inf.Dis.* 2007 ;11(2): 240-5
49. Arkader R, Troster EJ, Lopes MR, et al. Procalcitonin does discriminate between sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Minerva Anesteziol.* 2006; 91 :117-20
50. Castelli GP, Pognani C, Cita M, Stuardi A, Sgarbi L, Paladini R. Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU : diagnosis and monitoring of sepsis. *Minerva Anesteziol.* 2006 ; 72 :69-80
81. Ortiz FM, Soto YG, del Refugio VG, Beltrán AG, Castro EQ, Ramírez IO. Social-economic and obstetric factors associated to premature rupture of membranes. *Ginecol Obstet Mex.* 2008;76(8):468-75.
101. Jermisrisakpong W, Yuthavisuthi P , Punavakul U. Incidence of early onset neonatal sepsis in preterm newborn and characteristic of maternal vaginal pathogen. *J Prapokklao Hosp Clin Med Educat Center .*2007; 24 (4): 241-8
102. Macharashvili N, Kourbatova Ekaterina, Tsertsvadze Tengiz and col.. Etiology of neonatal blood stream infections in Tbilisi, Republic of Georgia. *Int. J. Infect. Dis ;*2008:230-2
103. Sundaram V, Kumar P, Dutta S, Mukhopadhyay K, Ray P, Gautam V, Narang A.Blood culture confirmed bacterial sepsis in neonates in a North Indian tertiary care center: changes over the last decade. *Jpn J Infect Dis.* 2009; 62(1): 46-50
135. Michael A. Flierl, Daniel Rittirsch, Brian A. Nadeau, Danielle E. Day, Firas S. Zetoune, J. Vidya Sarma, Markus S. Huber-Lang and Peter A. Ward Functions of the complement components C3 and C5 during sepsis *FASEB Journal.* 2008;22:3483-90.
141. Boo N Y, Nor Azlina A A, Rohana J . Usefulness of a semi-quantitative procalcitonin test kit for early diagnosis of neonatal sepsis. *Singapore Med Original Article J* 2008; 49(3) : 204
160. Görbe É. , Jeager J. Nagy B. and col. Assessment of serum interleukin-6 with a rapid test. The diagnosis of neonatal sepsis can be established or ruled out. *Orvosi Hetilap.* 2007; 148 :1609-14

## Curriculum Vitae

### INFORMAȚII PERSONALE

Nume  
Adresă  
Telefon  
Fax  
E-mail

Naționalitate  
Data nașterii

### EXPERIENȚĂ PROFESIONALĂ

**Șerban Oana-Iulia**  
**Strada Oașului Nr.86-90 Ap.27B**  
**0740 038382**

-

[oanas782000@yahoo.com](mailto:oanas782000@yahoo.com)

**Română**

04.07.1978

- Octombrie 2005-prezent  
UMF "Iuliu-Hațieganu" Cluj-Napoca  
Domeniul de activitate : Învățământ  
Preparator universitar
- Noiembrie 2005-prezent- Doctorand la Catedra de Neonatologie
- Ianuarie 2005-Octombrie 2005  
Spitalul Clinic Județean – Clinica Medicală II  
Domeniul de activitate : sănătate  
Medic stagiar

### EDUCAȚIE ȘI FORMARE

- 1998-2004  
Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”  
Cluj-Napoca  
Facultatea de Medicină Generală  
Tipul calificării: Doctor-Medic  
Medie ani de studii - 8.40  
Medie examen de licență – 9.73  
Nivelul de clasificare al formei de instruire: învățământ superior
- 1993-1997  
Colegiul Național de Informatică “Grigore Moisil” Brașov  
Media ani de studii – 9.06  
Medie examen de bacalaureat – 9.18  
Atestat informatică – operator, programator, analist-ajutor

### APTITUDINI ȘI COMPETENȚE PERSONALE

**Limba maternă**  
**Limbi străine cunoscute**

Limba română  
Limba engleză: nivel mediu  
Limba germană: nivel mediu

**Aptitudini și competențe  
tehnice**

Utilizator PC, echipamente de laborator (Sysmex 1800, Hitachi, Vidas)

**Permis de conducere**

Nu

### INFORMAȚII SUPLIMENTARE

*In extenso* în reviste românești:

- **Oana Iulia Șerban**, Antonia Popescu, Ligia Blaga. Sepsisul neonatal-Considerații etiopatogenetice.Obst.Ginec. 2008;LVI(1): 47-53
- **Oana Iulia Șerban**, Antonia Popescu, Ligia Blaga. Valoarea diagnostică a testelor de laborator în sepsisul neonatal.Clujul-Medical. 2008;LXXXI(4):477-82
- Ana-Nadia Schmidt, Gabriela Zaharie, Stamatian F., Carmen Micu, Emilia Maguran, **Oana Șerban**.Anatomy of Breathing in Neonates with Congenital Diaphragmatic Hernias. J.Clin.Anat.Embr.2008;1(3):29-34



- Ana-Nadia Schmidt, Gabriela Zaharie, Opincariu I, **Oana Șerban**, Carmen Micu. Encefalopatia hipoxic-ischemică neonatală. Corelații anatomo-clinice. Hipoxia perinatală. Primul congres național de neonatologie cu participare internațională, 28-30 septembrie 2006. Volum de rezumate, 46-51.
- Antonia Popescu, Ana-Nadia Schmidt, Andreica S., **Oana Șerban**, Anatomical Aspects In a Newborn With Meckel-Gruber Syndrome, J.Clin.Anat.Embr.2006; 1(4):13-6
- Ana-Nadia Schmidt, Opincariu I., Gabriela Zaharie, **Oana Șerban**, Carmen Micu, Raus C, Anencefalia sub incidența localizării defectului de închidere a tubului neural. Considerații anatomo-clinice, Rev.Rom.Anat.Antropol.2006; 5(1):9-16
- Angelica Teodora Filimon, Antonia Popescu, **Oana Iulia Șerban**. Current Stage Of Knowledge of Risk Factors, Etiology and Etiopathogeny of Hearing Loss, J.Clin.Anat.Embr.2006;1(3):
- Ana-Nadia Schmidt, Simona Oprea, Cristina Păiș, Bârsan M., Gheban D., **Oana Șerban** Defecte de septare ale cordului. Corelații anatomo-ecografice. Partea I. Rev.Anat. Embriol. Clin.2005; 1(1):51-60
- Ana-Nadia Schmidt, Simona Oprea, Cristina Păiș, Bârsan M., Gheban D., **Oana Șerban** Defecte de septare ale cordului. Corelații anatomo-ecografice. Partea II. Rev.Anat. Embriol. Clin.2005; 1(2):55-59

**Cursuri postuniversitare:**

02.06.2009-12.06.2009 – Catedra de Biochimie medicală

Servicii medicale paraclinice de laborator furnizate în ambulatoriu. Autorizare, evaluare, decontare, în relația contractuală cu CAS.

17.03.2008-28.03.2008 – Catedra de Chirurgie Oncologică

Citologie Oncologică

20.11.2006- 24.11.2006 – Catedra de Boli Infecțioase

Profilaxia cu antibiotice în chirurgie

12.02.2006-24.02.2006 – Catedra de Neonatologie

Dispensarizarea nou-născutului cu risc

**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY  
„IULIU HAȚIEGANU”  
FACULTY OF MEDICINE CLUJ-NAPOCA**



# **DOCTORAL THESIS**

**THE PREDICTIVE VALUE OF  
BACTERIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND  
IMMUNOLOGICAL TESTS IN THE  
DIAGNOSTIC OF THE NEONATAL SEPSIS.  
THE RELATION WITH  
THE GESTATIONAL AGE**

**SUMMARY**

**SCIENTIFIC COORDINATOR  
PROF.DR. ANTONIA POPESCU**

**DOCTORAL STUDENT  
DR. OANA-IULIA ȘERBAN**

**2009**

## **TABLE OF CONTENTS**

### **INTRODUCTION**

### **III. CURRENT KNOWLEDGE ON THE SUBJECT**

<b>CHAPTER 1. BACTERIOLOGICAL SEPSIS IN NEWBORN INFANTS .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Summary of sepsis research .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Defining sepsis .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Classifying sepsis .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4. Pathogenesis, infection routes and risk factors in neonatal sepsis.....</b>	<b>5</b>
<b>1.5. Epidemiology and incidence of early neonatal sepsis in correlation with weight         and gestational age .....</b>	<b>7</b>
<b>1.6. The ethiology of sepsis .....</b>	<b>10</b>
<b>1.6.1. The ethiology of early neonatal sepsis .....</b>	<b>10</b>
<b>1.6.2. The ethiology of late sepsis.....</b>	<b>17</b>
<b>1.6.3. The ethiology of extremely late sepsis.....</b>	<b>20</b>
<b>1.7. Clinical synopsis of neonatal sepsis .....</b>	<b>29</b>
<b>1.8. Screening neonatal sepsis .....</b>	<b>31</b>
<b>1.8.1. Sepsis screening in symptomatic newborns .....</b>	<b>31</b>
<b>1.8.2. Sepsis screening in asymptomatic newborns with gestational age higher             than 35 weeks .....</b>	<b>32</b>
<b>1.8.3. Sepsis screening in asymptomatic newborns with gestational age smaller             than 35 weeks, in the presence of more than one risk factor.....</b>	<b>33</b>
<b>1.9. Laboratory diagnostic of neonatal sepsis .....</b>	<b>34</b>
<b>1.9.1. Bacteriological tests .....</b>	<b>34</b>
<b>1.9.2. Non-specific diagnostic of neonatal sepsis.....</b>	<b>36</b>
<b>1.9.3. Immunological and biochemical markers relevant for neonatal sepsis             diagnostic.....</b>	<b>37</b>
<b>1.10. Treatment of neonatal sepsis.....</b>	<b>40</b>
<b>1.11. Complications of neonatal sepsis .....</b>	<b>42</b>
<b>1.12. Evolution and prognosis .....</b>	<b>45</b>
<b>CHAPTER 2. IMMUNOLOGICAL SPECIFICITIES IN NEWBORN INFANTS.</b>	
<b>THEIR IMPLICATIONS FOR NEONATAL SEPSIS.....</b>	<b>46</b>
<b>2.1. Cell-mediated immunity .....</b>	<b>47</b>
<b>2.2. Umoral-mediated immunity .....</b>	<b>49</b>

<b>IV. PERSONAL CONTRIBUTIONS</b>	
<b>CHAPTER 3. WORKING HYPOTHESIS</b>	<b>54</b>
3.1. Premises	54
3.2. Motivation of research	55
<b>CHAPTER 4. PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE STUDY</b>	<b>56</b>
<b>CHAPTER 5. MATERIALS AND METHODS</b>	<b>57</b>
5.1. Laboratory techniques	59
5.1.1. Bacteriological techniques	59
5.1.2. Hematological techniques	59
5.1.3. Techniques for acute phase reactants	61
5.1.4. Immunological techniques	61
5.1.5. Immuno-cromatografic techniques	65
5.1.6. ELISA technique	67
5.2. Statistical methods	69
<b>CHAPTER 6. PROSPECTIVE STUDY FOR EVALUATING RISK FACTORS IN NEONATAL SEPSIS</b>	<b>72</b>
6.1. Working hypothesis	72
6.2. Study objectives	73
6.3. Material and method	73
6.4. Results	75
6.4.1. Results for evaluating maternal risk factors	75
6.4.2. Results for evaluating foetal and neonatal risk factors	78
6.5. Discussions	93
6.6. Conclusions	100
<b>CHAPTER 7. BACTERIOLOGICAL, HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL MARKERS AS PREDICTORS OF NEONATAL SEPSIS</b>	<b>101</b>
7.1. Working hypothesis	101
7.2. Study objectives	102
7.3. Material and method	102
7.4. Results	103
7.5. Discussions	112
7.6. Conclusions	119

<b>CHAPTER 8. ASPECTS OF UMORAL IMMUNITY IN NEWBORN AS RISK FACTOR FOR NEONATAL SEPSIS. RELATION WITH GESTATIONAL AGE .....</b>	<b>121</b>
<b>8.1. Working hypothesis .....</b>	<b>121</b>
<b>8.2. Study objectives .....</b>	<b>122</b>
<b>8.3. Material and method.....</b>	<b>122</b>
<b>8.4. Results recorded in newborn groups.....</b>	<b>124</b>
<b>8.5. Results recorded in adult patient groups .....</b>	<b>141</b>
<b>8.6. Discussions .....</b>	<b>151</b>
<b>8.7. Conclusions .....</b>	<b>162</b>
<b>GENERAL CONCLUSIONS .....</b>	<b>165</b>
<b>DIAGNOSTIC PROTOCOL FOR EARLY SEPSIS IN NEWBORNS .....</b>	<b>169</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>170</b>

# INTRODUCTION

Sepsis is a clinical entity whose manifestations are varied and un-specific in the newborn infant, particularly in the prematurely born infant. The sepsis also represents an important morbidity and mortality cause in this age category.

Due to the gravity of its evolution, neonatal sepsis received a great deal of interest on the part of neonatologist doctors, and beyond. The treatment of the neonatal sepsis remains a challenge, in spite of the remarkable progresses recorded recently in its therapy, in turn a result of a better understanding of its pathogenesis.

In this context, it is imperative to start from evaluating current laboratory tests or of more rarely used medical practice markers, with a view to more rapidly diagnosing the neonatal sepsis. This would thus complete clinical snapshots, analyses and diagnostics, directly contributing to adjusting the correct therapeutical conduct.

I express my entire gratitude and sincere thanks to Prof. Dr. Antonia Popescu, for the trust granted in researching this theme and the extremely competent guidance received throughout the preparation and the elaboration of the thesis; to Prof. Dr. Gabriela Zaharie, Project Coordinator Dr. Ligia Blaga, the medical staff of the Cluj Cliniques Gynecology I and II for the support granted in case selection and research; to my parents for understanding and support.

## **I. CURRENT KNOWLEDGE ON THE SUBJECT**

Sepsis is a clinical entity whose manifestations are varied and un-specific in the newborn infant, particularly in the prematurely born infant. The sepsis also represents an important morbidity and mortality cause in this age category.

Due to the gravity of its evolution, neonatal sepsis received a great deal of interest on the part of neonatologist doctors, and beyond. The treatment of the neonatal sepsis remains a challenge, in spite of the remarkable progresses recorded recently in its therapy, in turn a result of a better understanding of its pathogenesis.

In this context, it is imperative to start from evaluating current laboratory tests or of more rarely used medical practice markers, with a view to more rapidly diagnosing the neonatal sepsis. This would thus complete clinical snapshots, analyses and diagnostics, directly contributing to adjusting the correct therapeutical conduct.

In the first part of the thesis which is focused on presenting theoretical knowledge, the following elements are covered: definition, classification, pathogenesis, ethiology, clinical analysis, diagnostics through current laboratory tests and through the use of serial immunological markers less used in clinical practice (serial immune-globulines, C3 fractions, C4 of complement, procalcitonine and interleukine-6).

In the next chapter the focus is on presenting immunological specificities of the newborn and their implications for neonatal sepsis.

## **II. PERSONAL CONTRIBUTIONS**

### **WORKING HYPOTHESIS**

The lack of obvious clinical signs of illness in the neonatal sepsis imposed the practical implementation of numerous and varied laboratory tests, some usual, some requiring specialised equipment and laboratory personnel.

Both in Romania and in more developed countries, the early diagnostic of sepsis is based mainly on clinical examinations when the clinical signs are sufficient as well as through laboratory tests focused on the investigation of bacteriological, haematological, biochemical and immunological markers. There are no laboratory tests with exhaustive value for the prediction of neonatal sepsis.

### **PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE STUDY**

The purpose of the research is improving the diagnostics of the neonatal sepsis, with focus on premature newborns but also on normally delivered newborns.

The objectives of the research are: the serological investigation for neonatal sepsis of a group of newborns; the comparative analysis of the sensitivity range of each marker in prognosis of sepsis conditions; the early diagnostic of neonatal sepsis, with a view to ensuring an early and adequate treatment; the quantification of resulting data with a view to establishing the relation between the incidence of sepsis in newborns and their gestational age, to assess the relation between risk factors and the presence of sepsis, to

estimate the degree of correspondence between immunological serological markers and the presence of sepsis conditions.

A final objective is represented by the development of a diagnostic protocol for laboratory analysis with optimal sensitivity and specificity, as well as advantageous from an economic point of view.

## MATERIALS AND METHOD

A prospective study was undertaken on 66 newborns (25 healthy as a control group; 41 with possible infection and with clinically identified infection), with gestational age between 27 and 42 weeks.

For certain determinations such as C3 and C4 fractions of the complement, procalcitonine and interleukine-6, a parallel investigation was carried out on a group of 35 adult subjects with neoplazical illnesses (15 healthy adults; 20 with identified sepsis) from the Cluj-Napoca Oncologic Institute.

Laboratory diagnostics included, for the groups of newborns, hemoculture (Biomerieux system), hemoleucograme, blood analysis, determination of proteine C-reactive (immune-turbidimetrie), of fractions C3 and C4 of the complement (immune-turbidimetrie), procalcitonine (immune-cromatography) and of Il-6 (ELISA). For the adult patients investigations were also carried out for fractions C3 and C4 of the complement, procalcitonine, Il-6.

The determination Il-6 was realised through the method Quantikine Il-6 Immunoassay (ELISA) relying on Quantikine Immunoassay kits (R&D Systems).

The analysis of statistical data was realised with the programmes Analyse and StatsDirect. Statistical tests were Wilcoxon, Spearman correlation. To analyse value distributions histograms were used.

## RESULTS

Chapter 6 represents a prospective study evaluating risk factors for neonatal sepsis, undertaken on a group of 66 newborns from Gynecology Cliniques I and II in Cluj-Napoca, the Obstetrics and Gynecology Clinique in Brasov, for the period 2006-2008.

In Figure 7 are presented maternal risk factors identified for the subjects of the control group (newborns without sepsis). Blue: without risk factors; Red: praevia placenta; Broken / ruptured membranes.

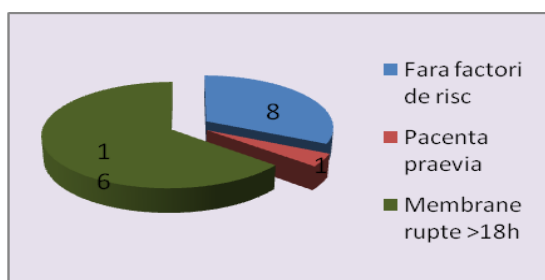


Figure 7. Maternal risk factors in control group.



In Figure 8 are represented maternal risk factors for newborns in the group with clinical sepsis signs without a confirmation of illness through the positivation of hemocultures. Blue: Red: Broken / ruptured membranes.

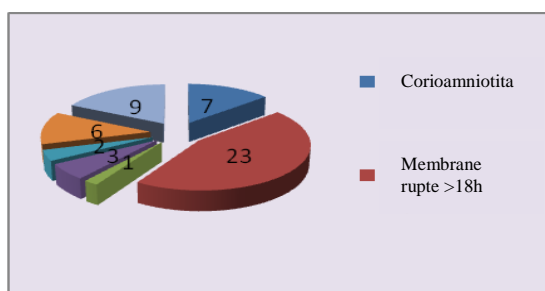


Figure 8. Sepsis risk factors for newborns suspected of infection

In Figure 9 are presented maternal risk factors identified in the newborns group with sepsis proven clinically and para- clinically. Blue: More than one risk factor; Red: Broken / ruptured membranes.

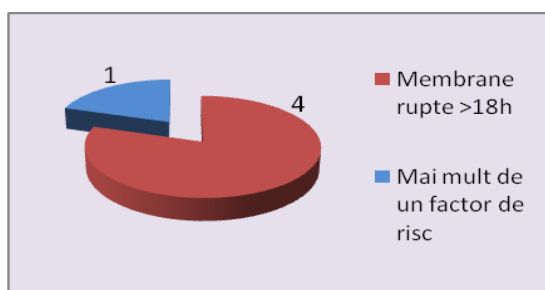


Figure 9. Maternal risk factors in newborns with proven sepsis

The research continues with an evaluation of foetal and neonatal risk factors. Firstly, the sex distribution of newborns was analysed (see Figures10 and 11). Blue: male; Red: female.

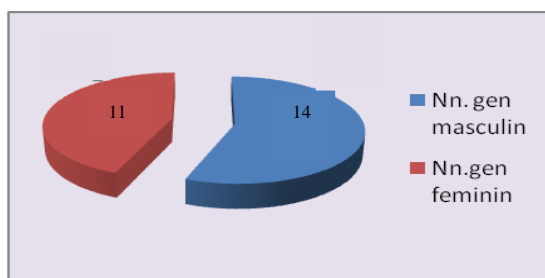


Figure 10. Distribution by sex of un-infected newborns (control group)

The majority of newborns (14 and 24 respectively) are males, both in the case of the control group and the study groups.

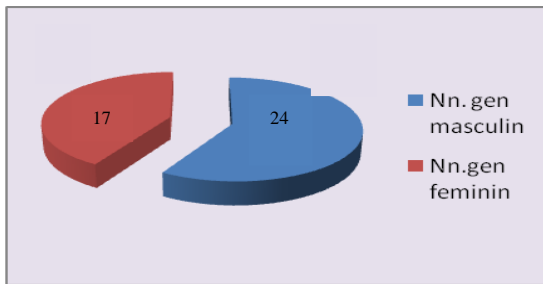


Figure 11. Distribution by sex of newborns with infection and suspected of infection

The main risk factors in sepsis, foetal and neonatal, are represented by sex (male), under-weight (less than 2500 g), gestational age (less than 37 weeks), and neonatal asphyxiation evaluated through APGAR score.

These risk factors were then analysed for each of the newborn groups.

The first one taken in discussion was the weight parameter and its distribution according to the following sub-categories:  $G \geq 2500g$ ;  $G > 1500 - < 2500g$ ;  $G = 1000 - 1500g$ ;  $G < 1000g$ .

Another parameter is gestational age. For each of the groups its distribution was analysed as it follows:  $VG < 30S$ ;  $VG = 30 - 34S$ ;  $VG = 35 - 36S$ ;  $VG > 36S$ . (Figures 19, 22, 23).

The mean gestational age of newborns in the control group (of 25 subjects) was 31.2 weeks.

In the case of newborns with proven infection (a total of 5 subjects), the average gestational age was 35 weeks. The group of newborns suspected of being infected (36, out of which 27 prematurely born) recorded an average gestational age of 34.94 weeks.

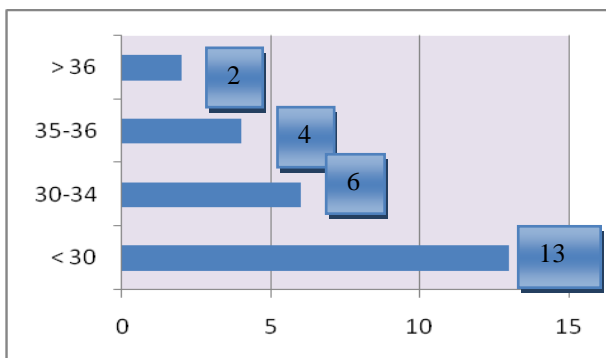


Figure 19. Gestational age of newborns in the group with un-infected subjects.

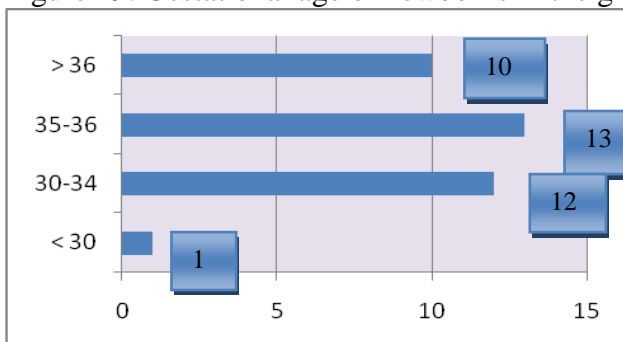


Figure 22. Gestational age of newborns in the group suspected of infection.

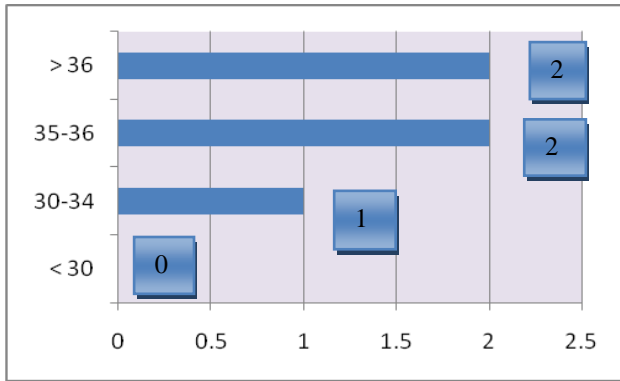


Figure 23. Gestational age of newborns in the group with proven infection.

The last parameter taken into account as a risk factor for neonatal sepsis is the APGAR score at 5 minutes from birth. This was discussed and compared for each of the groups under study. For statistical and practical considerations, a disaggregation of newborn categories was performed by APGAR score, as follows: newborns with APGAR score  $>7$ , and  $\leq 7$  respectively, in correspondence with the presence or absence of neonatal asphyxia (Figures 29 and 30).

Newborns in the control group represented the majority (21 cases out of 25 with 84%) thus an APGAR score  $> 7$ ; 4 newborns (16%) recorded an APGAR  $\leq 7$ .

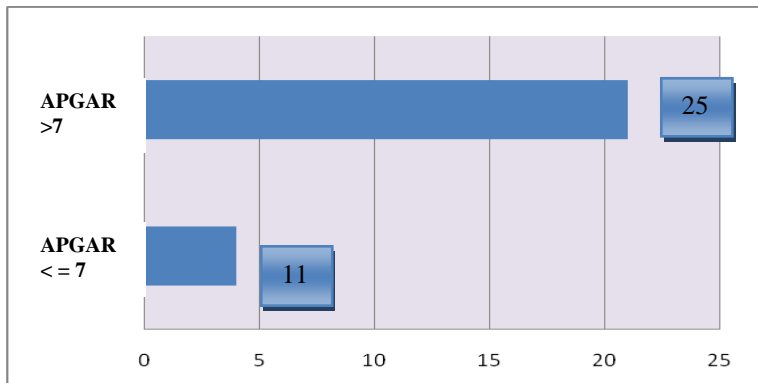


Figure 29. APGAR score of newborns in the group suspected of infection.

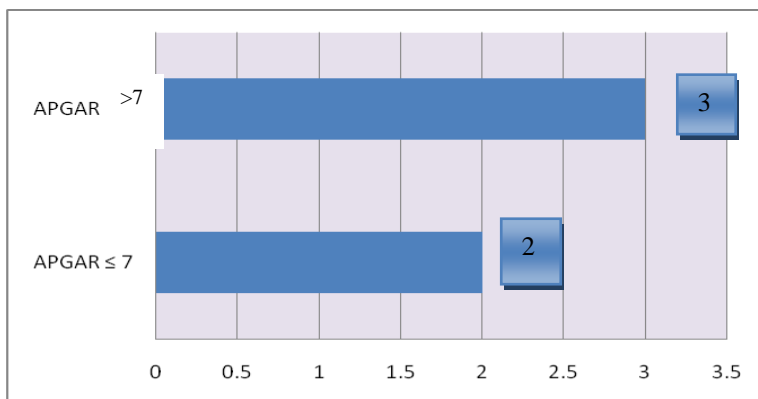


Figure 30. APGAR score of newborns with proven infection

In chapter 7 the research is focused on bacteriological, hematological and biochemical markers as prediction factors for neonatal sepsis.

Positive hemocultures were recorded only in the case of 5 newborns: 4 infected with Gram-negative bacteria (3-*Klebsiella* spp. and 1-*E.coli*). In the remaining case, the infection was caused by *Staphylococcus aureus* (20%).

Another parameter taken into consideration in this section was the comparative value of leucocytes, and of neutrofiles respectively, for each of the groups under study. In the control case (25 newborns) 23 cases were recorded with normal values of both leucocytes and neutrofiles respectively (92%); one newborn presented leucocytosis and a second one leucopenia.

In figure 34 it is presented the distribution of the values of leucocytes and the quantitative presence of neutrofiles for newborns in the group with suspected infection and the group with proven infection.

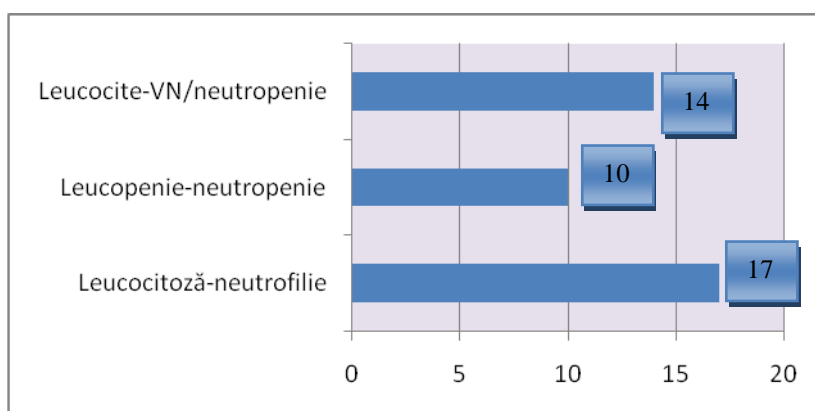


Figure 34. Distribution of the values of leucocytes and of neutrofiles.

Next, the ratio between immature neutrofiles and the total number of neutrofiles was examined (Figures 36 and 38).

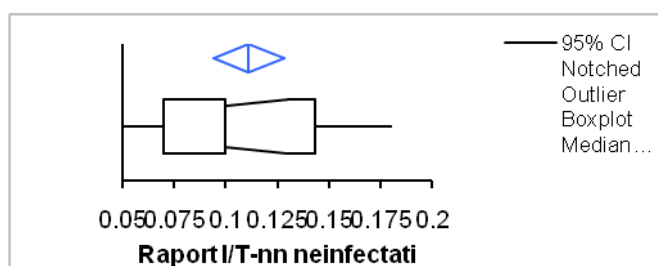


Figure 36. Distribution of the I/T ratio in the control group.

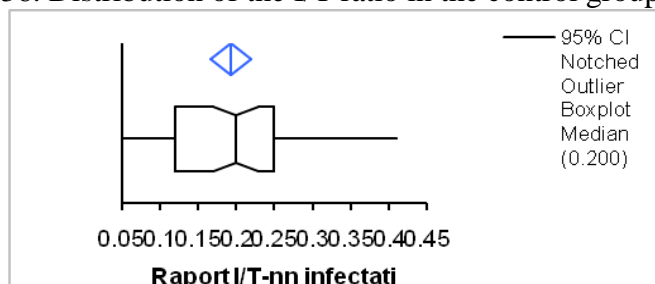


Figure 38. Distribution of the I/T ration in newborn with proven and suspected infection.

For the C-reactive protein the following parameters were calculated: sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value. They recorded the following values:

- sensitivity → 82%;
- specificity → 79%
- positive predictive value → 86%
- negative predictive value → 73%

The square area under the ROC curve recorded the value 0.13.

The Spearman correlation coefficient was calculated between CRP and gestational age. It recorded the value 0.8264 (very strong) (95%CI= -0.28 - 0.34)

In chapter 8 several parameters were evaluated: IgG, IgA, IgM, C3 and C4 fractions of the complement, procalcitonine and Il-6, from the perspective of their diagnostics value and correlation with gestational age.

The Spearman correlation between IgG and VG is presented in the graph below. The value of the Spearman correlation was 0.66 (95%CI=0.49-0.77; t statistic=6.95; 2-tailed p<0.0001).

For the study of the capacity of IgM to predict the sepsis state, the ROC curve was plotted for all subjects under study. This is presented in Figure 55. The area under this curve recorded the value 0.04.

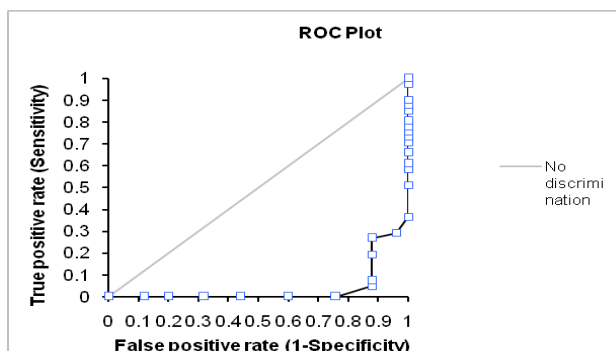


Figure 55. ROC curve for IgM in newborn subjects.

The Spearman correlation was used for the relation between IgM and gestational age. The value obtained is 0.45 (95%CI=0.23 to 0.62; t statistic=4.00; 2-tailed p=0.0002)

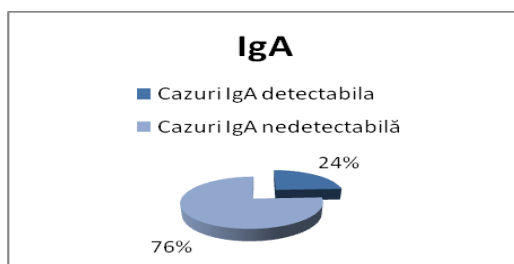


Figure 56. Detectable vs un-detectable values for IgA for all newborns under study.

In Figure 56 one can observe that out of the total of 66 newborns under study, only in 24% of them it was possible to detect the level of IgA, which corresponds with data from specialised literature.

Next, it was analysed the behaviour of fractions C3 and C4 of the complement for both the control group and the study group.

The area corresponding to the ROC curve for fraction C3 of the complement is 0.88, while that of fraction C4 is -- 0.80.

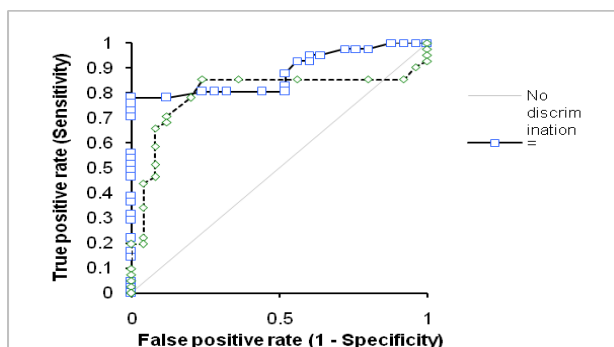


Figure 65. ROC curves for C3 and C4.

In the following graphs it is analysed procalcitonine as a possible marker for the early detection of sepsis. In Figure 67 its values are presented for newborns with proven or possible infection.

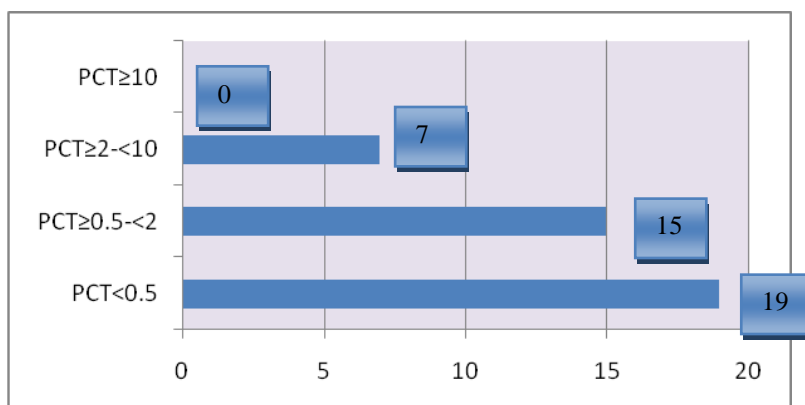


Figure 67. Intervals of the values of procalcitonin recorded for newborns with infection or suspected of infection.

In Figure 72 the ROC curve corresponding to values Il-6 recorded in the groups of newborns under study. The area corresponding to this curve is 0.31.

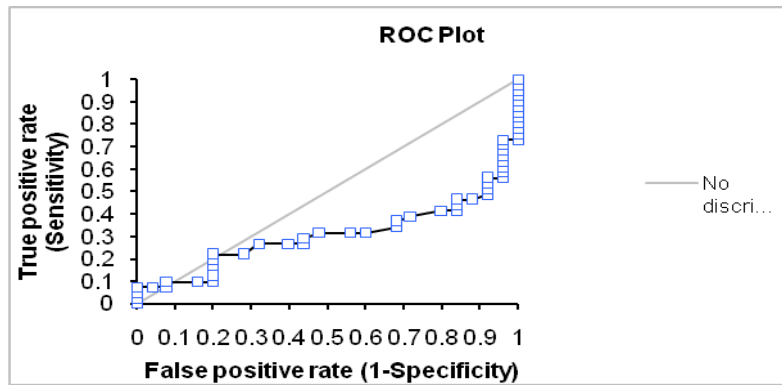


Figure 72. ROC curve – II-6.

The diagnostic value of C3 and C4 fractions of the complement, assessed with the help of the ROC curve, was superior to all the other diagnostic markers in the adult patients. For C3 the ROC curve values was 0.98 and for C4 it was 0.73.

In the case of the adult control group, all the values of procalcitonin are distributed under the value 0.5 ng/ml.

In the case of adult patients with sepsis, one observes that the values of procalcitonin which could provide orientation regarding the diagnostics are distributed in their majority (65%) in intervals  $\geq 0.5$  ng/ml .

Comparing with newborn groups, one observes a higher accuracy of procalcitonin in establishing the sepsis diagnostic in the case of adults than in that of newborns.

## CONCLUSIONS

1. Early and prolonged rupture of membranes constitutes the most frequent risk factor associated with sepsis in newborns.
2. Male newborns are more frequent both in the control group and amongst newborns with proven and suspected infection, which indicates their possible predisposition towards sepsis.
3. Both newborns in the study group and in the control group recorded a gestational age smaller than 37 weeks, which indicates a prevalence of early newborns.
4. The average APGAR score of newborns in the control group recorded the value 8.48, which is superior to the values witnessed in the case of the other two groups, which indicates a lack of neonatal asphyxia in the control group.
5. The main biological marker in the diagnostics of sepsis is the hemoculture.
6. In this study, 5 newborns in the risk group of 41 subjects recorded positive hemocultures (12.195%), the present germs being *Klebsiella spp.* (3 cases), *Escherichia coli* (1 case) and *Staphylococcus aureus* (1 case).
7. Regarding leucocytary indexes, the presence of leucocytosis with neutrocytosis, it was recorded in 17 of the subjects (41.46%) in the risk group. A number of 10 subjects (24.39%) presented leucopenia with neutropenia.
8. Leucopenia with neutropenia was present at all 5 newborns with confirmed sepsis.
9. The ratio between immature neutrophils and the total number of neutrophils for newborns with proven infection recorded value higher than 0.2 in 80% of the

subjects, suggesting the outbreak of an infection. The predictive value was 100%, while the negative predictive value was 60.9%.

10. Trombocytopenia appears only in the advanced stages of illness, in the presence of disseminated intra-vascular coagulation. In this study, this was recorded in the case of only 2 patients with trombocytopenia ( $<100.000/\mu\text{l}$ ), which corresponds with data from specialised literature.
11. For the C-reactive proteine (CRP), data from specialised literature assert an increase in its early values in neonatal infection. In this study, the parameters sensitivity (82%), specificity (79%), positive predictive value (86%) and negative predictive value (73%) prove the predictive value for the neonatal sepsis, comparable with the ratio I/T.
12. In this study, it was recorded comparable values of sensitivity and positive predictive value of I/T and CRP.
13. Between the values of C-reactive protein and gestational age of newborns it was recorded a very strong Spearman correlation: 0.8264.
14. Corresponding to the values of the C-reactive protein, the area under the ROC curve was 0.13, which indicates a weak diagnostics value of this inflammation marker.
15. IgG values correlate with gestational age of newborns. The Spearman correlation coefficient recorded the value 0.66 (an average level).
16. IgG values do not correlate with weight at birth, the Spearman correlation index being 0.39 (lack of obvious correlation).
17. There have not been recorded statistically significant changes between the healthy newborns and those with proven or suspected sepsis with respect to IgG values, which indicates that IgG does not modify with significant changes in the conditions of illness.
18. IgM values in newborns with proven or suspected sepsis are higher than those witnessed in the case of the control group (average value 40.1 mg/dl as compared to 29.5 mg/dl).
19. IgM values do not correlate with the gestational age of newborns.
20. The diagnostic value of IgM, determined with the help of the ROC curve, is low.
21. IgA is undetectable in a high percentage of cases, which confirms data from specialised literature, which place the beginning of its secretion in the post-natal period, between weeks 3 and 4 of extra-uterine life.
22. The values of C3 fractions of the complement recorded in the group of newborns with infection and those suspected of infection are higher to those recorded in the control group. This fact indicates a dependency of the C3 fraction on the complement on the presence of sepsis.
23. The C4 fraction of the complement recorded higher values in the case of newborns with proven or suspected infection.



24. The diagnostic value of C3 and C4 fractions of the complement, assessed with the help of the ROC curve, was superior to all the other diagnostic markers.
25. Procalcitonin cannot represent alone a marker of sepsis diagnostic.
26. The diagnostic value of Il-6, determined with the help of the ROC curve, is low.
27. Between newborns and adults one observes that, for the C3 fraction of the complement, the area under the ROC curve is higher for adults.
28. For the C4 fraction of the complement, the value of the area under the ROC curve is smaller in the case of adult patients than in the case of newborns.
29. In the case of the adult control group, all the values of procalcitonin are distributed under the value 0.5 ng/ml.
30. In the case of adult patients with sepsis, one observes that the values of procalcitonin which could provide orientation regarding the diagnostics are distributed in their majority (65%) in intervals  $\geq 0.5$ ng/ml .
31. Comparing with newborn groups, one observes a higher accuracy of procalcitonin in establishing the sepsis diagnostic in the case of adults than in that of newborns.
32. It was witnessed that the diagnostic value of Il-6 is higher in the case of adult patients than in the case of newborns.
33. For the markers treated in this research, one observes that the highest diagnostic value corresponds to the C3 fraction of the complement, followed by the C4 fraction, Il-6 and finally of IgM.
34. The correlation between the different biological markers treated in this research and the gestational age of newborns is as follows: very strong (0.82) for the C-reactive protein; average (0.66) for IgG; relatively low for the C3 fraction of the complement (0.47), IgM (0.45), and low for C4 (0.304) and Il-6 (0.18).
35. The level of prediction of the sepsis by the markers in this research, evaluated with the ROC curve by calculating the area under it (Wilcoxon test) is as follows: high diagnostic value for the fractions C3 and C4 of the complement (areas of 0.88 and 0.8 respectively), low diagnostic value for Il-6 (0.31), C-reactive protein (0.13) and IgM (0.04).

## SELECTED REFERENCES

1. Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taeusch HW, Bacterial Sepsis and Meningitis. In: Avery's Diseases of the Newborn, 8th Ed., Ed. W.B. Saunders Co.; 2004;p: 551-2
2. Kaufman D, Fairchild KD, Clinical Microbiology of Bacterial and Fungal Sepsis in Very-Low-Birth Infants.Clin.Microbio.Rev.2004; 17(3): 1-120
12. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am.* 2004; 51(4):939-59.
15. Ronnestad A, Abrahamsen TG, Medbo S. Septicemia in the first week of life in a Norwegian national cohort of extremely premature infants. *Pediatrics* 2005; 115:262-8.
16. Chacko B, Sohi I. Early onset neonatal sepsis. *Indian J.Pediatr.* 2005; 72(1):23-6.
28. Soto SM, Bosch J, Jimenez de Anta M T, Vila J. Comparative study of virulence traits of Escherichia coli clinical isolates causing early and late neonatal sepsis. *J. Clin.Microbiol.* 2008; 46(3):1123-5.
38. Purificacion Tumbaga F, Alistair G.S. P. Guidelines 1-07: Evaluation and Management of Asymptomatic Newborns Born at  $\geq 35$  wks Gestation at Risk for Early Onset Neonatal Sepsis.NeoReviews.2006; 7(10): e524
45. Renato Couto C, Barbarosa AAJ, Pedrosa MGT, Biscione FM. C-Reactive protein-Guided approach may shorten length of antimicrobial treatment of culture-proven late onset sepsis. An Intervention Study. *Braz.J.Inf.Dis.* 2007 ;11(2): 240-5
49. Arkader R, Troster EJ, Lopes MR, et al. Procalcitonin does discriminate between sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Minerva Anesteziol.* 2006; 91 :117-20
50. Castelli GP, Pognani C, Cita M, Stuani A, Sgarbi L, Paladini R. Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU : diagnosis and monitoring of sepsis. *Minerva Anesteziol.* 2006 ; 72 :69-80
81. Ortiz FM, Soto YG, del Refugio VG, Beltrán AG, Castro EQ, Ramírez IO. Social-economic and obstetric factors associated to premature rupture of membranes. *Ginecol Obstet Mex.* 2008;76(8):468-75.
101. Jermisirisakpong W, Yuthavisuthi P , Punavakul U. Incidence of early onset neonatal sepsis in preterm newborn and characteristic of maternal vaginal pathogen. *J Prapokkklao Hosp Clin Med Educat Center .*2007; 24 (4): 241-8
102. Macharashvili N, Kourbatova Ekaterina, Tsertsvadze Tengiz and col.. Etiology of neonatal blood stream infections in Tbilisi, Republic of Georgia. *Int. J. Infect. Dis ;*2008:230-2
103. Sundaram V, Kumar P, Dutta S, Mukhopadhyay K, Ray P, Gautam V, Narang A.Blood culture confirmed bacterial sepsis in neonates in a North Indian tertiary care center: changes over the last decade. *Jpn J Infect Dis.* 2009; 62(1): 46-50
135. Michael A. Flierl, Daniel Rittirsch, Brian A. Nadeau, Danielle E. Day, Firas S. Zetoune, J. Vidya Sarma, Markus S. Huber-Lang and Peter A. Ward Functions of the complement components C3 and C5 during sepsis *FASEB Journal.* 2008;22:3483-90.
141. Boo N Y, Nor Azlina A A, Rohana J . Usefulness of a semi-quantitative procalcitonin test kit for early diagnosis of neonatal sepsis. *Singapore Med Original Article J* 2008; 49(3) : 204
160. Görbe É. , Jeager J. Nagy B. and col. Assessment of serum interleukin-6 with a rapid test. The diagnosis of neonatal sepsis can be established or ruled out. *Orvosi Hetilap.* 2007; 148 :1609-14

## Curriculum Vitae

### Personal informations

**Name**

Șerban Oana-Iulia

**Address**

Oașului street Number.86-90 , 27B

**Telephon**

0740 038382

**Fax**

-

**E-mail**

[oanas782000@yahoo.com](mailto:oanas782000@yahoo.com)

**Nationality**

romanian

**Birth date**

04.07.1978

### Professional experience

- October 2005-present  
UMF "Iuliu-Hațieganu" Cluj-Napoca  
Activity : Education  
Preparer education
- November 2005-present- post-graduate on Department  
of Neonatology
- January 2005-October 2005  
County Clinical Hospital – Two Medical Clinic  
Activity : health  
Trainee doctor

### Education and training

- 1998-2004  
University of Medicine and Pharmacy ,, Iuliu  
Hațieganu"Cluj-Napoca Faculty of Medicine  
Qualifications: Physician  
Average years of study - 8.40  
Media license exam – 9.73  
Classification level of the form of training:higher  
education
- 1993-1997  
National College of Informatics"Grigore Moisil"  
Brașov  
Average years of study – 9.06  
Media baccalaureate exam– 9.18  
Certified computer – operator aid programmer  
analyst

### PERSONAL SKILLS AND COMPETENCES

**Languages**

romanian language

**Foreign languages**

English language: average

German language: average

**Skills and professional  
competencies**

PC user, laboratory equipment (Sysmex 1800, Hitachi,  
Vidas)

**Driving licence**

No

## Further informations

## Publications:

*In full* in Romanian journals:

- **Oana Iulia Șerban**, Antonia Popescu, Ligia Blaga. Sepsisul neonatal-Considerații etiopatogenetice. *Obst.Ginec.* 2008;LVI(1): 47-53
- **Oana Iulia Șerban**, Antonia Popescu, Ligia Blaga. Valoarea diagnostică a testelor de laborator în sepsisul neonatal. *Clujul-Medical.* 2008;LXXXI(4):477-82
- Ana-Nadia Schmidt, Gabriela Zaharie, Stamatian F., Carmen Micu, Emilia Maguran, **Oana Șerban**. Anatomy of Breathing in Neonates with Congenital Diaphragmatic Hernias. *J.Clin.Anat.Embr.*2008;1(3):29-34
- Ana-Nadia Schmidt, Gabriela Zaharie, Opincariu I, **Oana Șerban**, Carmen Micu. Encefalopatia hipoxic- ischemică neonatală. Corelații anatomo-clinice. Hipoxia perinatală. Primul congres național de neonatologie cu participare internațională, 28-30 septembrie 2006, 46-51.
- Antonia Popescu, Ana-Nadia Schmidt, Andreica S., **Oana Șerban**, Anatomical Aspects In a Newborn With Meckel-Gruber Syndrome, *J.Clin.Anat.Embr.*2006; 1(4):13-6
- Ana-Nadia Schmidt, Opincariu I., Gabriela Zaharie, **Oana Șerban**, Carmen Micu, Raus C, Anencefalia sub incidența localizării defectului de închidere a tubului neural. Considerații anatomo-clinice, *Rev.Rom.Anat.Antropol.*2006; 5(1):9-16
- Angelica Teodora Filimon, Antonia Popescu, **Oana Iulia Șerban**. Current Stage Of Knowledge of Risk Factors, Etiology and Etiopathogeny of Hearing Loss, *J.Clin.Anat.Embr.*2005;1(3):7-11
- Ana-Nadia Schmidt, Simona Oprea, Cristina Păiș, Bârsan M., Gheban D., **Oana Șerban** Defecte de septare ale cordului. Corelații anatomo-ecografice. Partea I. *Rev.Anat. Embriol. Clin.*2005; 1(1):51-60
- Ana-Nadia Schmidt, Simona Oprea, Cristina Păiș, Bârsan M., Gheban D., **Oana Șerban** Defecte de septare ale cordului. Corelații anatomo-ecografice. Partea II. *Rev.Anat. Embriol. Clin.*2005; 1(2):55-59

## Postgraduate courses

02.06.2009-12.06.2009 – Departament of Medical Biochemistry

Laboratory medical laboratory services provided in outpatients. settlement approval rating in the contractual relationship with CAS .

17.03.2008-28.03.2008 – Department of Surgical  
Oncology

Oncologic Cytology

20.11.2006- 24.11.2006 – Department of Infectious  
Diseases

Antibiotic Prophylaxis in Surgery

12.02.2006-24.02.2006 – Department of Neonatology

Consultation of risk infant