

Características de la frecuencia cardíaca y las pruebas de laboratorio en la sepsis neonatal

M. Pamela Griffin, MD^a, Douglas E. Lake, PhD^b, y J. Randall Moorman, MD^{b,c}

GENERALIDADES: La evaluación de la sospecha de sepsis en un recién nacido suele incluir la toma de sangre para las pruebas de laboratorio. Las desventajas de la práctica actual consisten en que el recién nacido tiene que presentar signos clínicos de la enfermedad para considerar el diagnóstico, y que las pruebas de laboratorio convencionales efectuadas a tal efecto suelen ser cruentas. Hemos observado que el diagnóstico clínico de sepsis neonatal está precedido por características anómalas de la frecuencia cardíaca (FC), como la disminución de la variabilidad y las deceleraciones transitorias, y hemos diseñado una estrategia de predicción mediante la monitorización de las diferentes cifras de FC, basada en un análisis de regresión logística multivariable, desarrollada en una unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN) terciaria y validada en otra. Supusimos que la monitorización de las FC, continua e incruenta, puede complementar a las pruebas de laboratorio convencionales para establecer el diagnóstico de la sepsis neonatal.

OBJETIVO: Comprobar la hipótesis según la cual la monitorización de las FC añade información a las pruebas de laboratorio convencionales en el diagnóstico de la sepsis neonatal.

DISEÑO: Tomamos prospectivamente datos de la FC de 678 recién nacidos consecutivos, que permanecieron durante más de 7 días en la UCIN de la University of Virginia entre julio de 1999 y julio de 2003. Medimos prospectivamente las FC y observamos

149 episodios de sepsis con hemocultivo positivo, de los que dispusimos de datos en 137. Obtuvimos todos los resultados de laboratorio referentes al cociente de leucocitos inmaduros y totales (I:T), el recuento leucocitario, la determinación de la glucosa, y el recuento de plaquetas, HCO_3^- , pCO_2 y pH. Comprobamos las hipótesis mediante un modelo de regresión logística multivariable ajustado para mediciones repetidas.

RESULTADOS: Observamos que el índice de FC, disponible en el 92% de las ocasiones, se asoció de forma muy significativa con la sepsis (área ROC, 0,73; $p < 0,001$). El cociente I:T, el recuento leucocitario y el recuento de plaquetas (disponible en el 4-8% de las ocasiones, habitualmente cerca del momento de la sospecha de sepsis) y la glucemia y el pH (disponibles en el 28 y el 38% de las ocasiones, respectivamente) también se asociaron de forma significativa con la sepsis (área ROC, 0,75; $p < 0,001$). Las FC y los resultados de laboratorio añadieron información independiente entre sí, y el modelo de predicción que utiliza todas las variables significativas tiene un área ROC de 0,82 ($p < 0,001$).

CONCLUSIONES: La monitorización de las características de la FC añade una información independiente a las pruebas de laboratorio en el diagnóstico de la sepsis neonatal con cultivos positivos.

Los recién nacidos de la unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN) corren el riesgo de presentar sepsis, que es máximo para los nacidos con muy bajo peso (MBPN; < 1.500 g). En Estados Unidos nacen cada año unos 56.000 niños de MBPN¹. La supervivencia de este grupo ha mejorado con los avances de los cuidados intensivos neonatales, pero la sepsis tardía sigue siendo una importante causa de morbilidad y mortalidad. En un amplio estudio de la NICHD Neonatal Network se halló un aumento de la mortalidad de 2,5 veces y un incremento de la estancia hospitalaria de más del 30% entre el 21% de los recién nacidos de MBPN con sepsis demostrada por cultivos². En este estudio se concluyó que “se necesita urgentemente” encontrar estrategias para reducir la incidencia y la gravedad de la sepsis neonatal. Una de ellas podría ser la monitorización fisiológica continua incruenta de los pacientes de la UCIN, optimizada para detectar signos tempranos de enfermedad.

Departments of ^aPediatrics, ^bInternal Medicine and ^cMolecular Physiology and Biological Physics. Cardiovascular Research Center. University of Virginia Health System, VA.

Trabajo presentado, parcialmente, al Pediatric Academic Societies' 2004 Annual Meeting.

Medical Predictive Science Corporation, de Charlottesville, Virginia, posee una licencia para comercializar tecnología relacionada con la monitorización de las características de la frecuencia cardíaca de los recién nacidos, y financió parcialmente este estudio. Tras finalizar el estudio, los Dres. Griffin y Moorman compraron acciones de esta compañía. La financiación adicional de este estudio provino de la American Heart Association, Mid-Atlantic Research Affiliate; University of Virginia Children's Medical Center Research Fund, Virginia's Center for Innovative Technology, y NIGMS-64640 del National Institute of General Medical Sciences.

El diagnóstico de sepsis neonatal es difícil de realizar porque los signos clínicos son sutiles e inespecíficos, y las pruebas de laboratorio, incluido el patrón de referencia del hemocultivo, no siempre son fidedignas³⁻⁶. Por ejemplo, Fanaroff et al, de la NICHD Neonatal Network, constataron una serie de hallazgos clínicos y de laboratorio asociados⁷. Muchos eran inespecíficos, y ninguno tuvo una gran exactitud en la predicción. Esto puede atribuirse a la complejidad y la variabilidad de la respuesta del huésped a la infección, que se ha denominado síndrome de respuesta inflamatoria sistémica^{8,9}.

Antes que los signos clínicos de sepsis, los neonatos muestra una reducción de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV) y deceleraciones transitorias similares a las observadas en la pérdida del bienestar fetal¹⁰. Las mediciones de la frecuencia cardíaca (FC) optimizadas para detectar estas características anormales de la FC se utilizaron para desarrollar un modelo de predicción de sepsis que añadió información a la edad gestacional (EG), el peso al nacimiento (PN) y los días de vida¹¹. El modelo fue desarrollado en una Ucin y validado en otra¹¹. Los resultados del modelo de predicción, que denominamos "índice FC", también identifican a los recién nacidos en mayor riesgo de muerte intrahospitalaria¹². Habíamos observado que los recién nacidos con hallazgos clínicos compatibles con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) y hemocultivo positivo o negativo presentaban idénticas anomalías de las características de la FC¹⁰. Desde luego, el hemocultivo es un patrón de referencia imperfecto para la sepsis y hay otras causas de SRIS.

En este trabajo, nuestro objetivo fue comprobar la hipótesis según la cual el índice FC añade información estadísticamente significativa para el diagnóstico de sepsis neonatal a los valores de laboratorio ya disponibles por los médicos. Preguntamos específicamente si la exactitud del análisis de regresión mejoraba de forma estadísticamente significativa al combinar el índice FC con los valores de laboratorio como indicadores de sepsis.

MÉTODOS

Población de pacientes

Estudiamos a todos los ingresados en la Ucin de la University of Virginia entre julio de 1999 y julio de 2003 que tenían 7 o más días de vida. El Comité de Ética de la University of Virginia aprobó el protocolo de investigación clínica. El personal de asistencia sanitaria conoció el del resultado de la monitorización de la FC hasta septiembre de 2003.

Diseño del estudio

Todas las historias clínicas se dividieron en bloques de 6 h a partir de la medianoche, con un total de 71.748 h para todos los pacientes. En cada bloque registramos los siguientes parámetros: a) hemocultivos recogidos por sospecha clínica de sepsis; b) resultados de las pruebas de laboratorio, y c) índice FC.

Sepsis

Definimos como sepsis la sospecha diagnóstica de un médico, con un hemocultivo positivo a las bacterias habitualmente no consideradas como contaminantes, seguida de tratamiento antibiótico durante 5 días o más. Esta definición concuerda con el diagnóstico de "sepsis probada" de los Centers for Disease

Control¹³. En el caso de las infecciones por *Staphylococcus* coagulasa negativos (CONS), nuestra definición concuerda con la descripción de "posible" sepsis por CONS de la NICHD Neonatal Research Network².

Resultados de las pruebas de laboratorio

Recogimos todos los valores de laboratorio del recuento leucocitario ($n = 4.243$), el cociente de leucocitos inmaduros/totales (I:T) ($n = 3.382$), el recuento de plaquetas ($n = 6.286$), glucosa ($n = 21.277$), HCO_3^- ($n = 7.751$), pCO_2 y pH ($n = 28.714$) de un archivo clínico electrónico. Se consideró un resultado anormal de laboratorio la presencia de leucocitosis o leucopenia (recuento leucocitario > 20.000 o $< 5.000/\mu\text{l}$), gran proporción de neutrófilos inmaduros circulantes (cociente I:T $> 0,2$), trombocitopenia (recuento de plaquetas $< 100.000/\mu\text{l}$), hiperglucemia (glucemia > 180 mg/dl), hipercarbia ($\text{pCO}_2 > 70$ mmHg), bicarbonato bajo ($\text{HCO}_3^- < 15$ mg/dl) o pH bajo ($< 7,2$) en las 6 h precedentes. Al considerar las pruebas de laboratorio como variables continuas (con la importante excepción del recuento leucocitario, como se indica más adelante), los resultados fueron similares que al variar los umbrales de la normalidad.

Índice FC

Medimos prospectivamente el índice FC cada 6 h ($n = 71.478$)^{11,12}. Se calcula a partir de la FC y refleja hasta qué punto se presentan una variabilidad reducida y deceleraciones transitorias. Estas características anormales se encuentran en la fase subclínica de algunos casos de sepsis neonatal y no forman parte del espectro de la variabilidad normal de la FC. Pueden detectarse aplicando la desviación estándar, la asimetría de la muestra¹⁴ (una medida de la simetría de los histogramas de la FC) y la entropía de la muestra^{15,16} (una medida de la regularidad que disminuye con la reducción de la variabilidad y las deceleraciones transitorias) de períodos de 4.096 latidos combinados en un modelo de regresión logística desarrollado en una Ucin y validado en otra¹¹.

El índice FC es una medición continua. Para facilitar la aplicación clínica de este índice, definimos 3 grados de riesgo basados en los valores del modelo. El 70% más bajo de las mediciones de las FC fue inferior o igual al valor medio y correspondió a un riesgo relativo de ≤ 1 respecto a enfermedad neonatal aguda en las 24 h siguientes. Los calificamos de "bajo riesgo". El 90% de los valores fue inferior o igual al doble del valor medio, de forma que los valores entre los percentiles 70 y 90 correspondieron a un aumento del riesgo relativo de 1-2 veces, y los calificamos de "riesgo medio". Los valores de FC superior al percentil 90 correspondieron a un riesgo doble o mayor, y los calificamos de "alto riesgo". Se dispuso de los valores de FC en 137 episodios de sepsis.

Análisis estadístico

Comprobamos las hipótesis mediante un modelo de regresión logística multivariable ajustado a mediciones repetidas con un test de la χ^2 de Wald respecto a si las variables de predicción añadieron información independiente entre sí¹¹.

RESULTADOS

Población de pacientes

Estudiamos 678 recién nacidos, de los que 320 eran de MBPN. La base de datos del estudio contenía 49 recién nacidos-año, y los resultados de la monitorización FC y las pruebas de laboratorio. La tabla 1 muestra las características demográficas y la incidencia de sepsis en el estudio. Como era de esperar, la mayoría de los episodios se produjo en recién nacidos de MBPN, de los que el 29% tuvo uno o más episodios de sepsis.

TABLA 1. Demografía de la población de estudio

	Total	< 1.500 g
N.º de recién nacidos	678	320
Peso al nacimiento	1.578 (973, 2.700)	952 (729, 1.195)
Edad gestacional	33 (27, 37)	27 (25, 29)
Varones (%)	56	55
Hemocultivo positivo	149 (108)	135 (93)

Los valores corresponden a la mediana (percentiles 25, 75) o episodios (pacientes). Se dispuso de datos de la frecuencia cardíaca en 137 episodios.

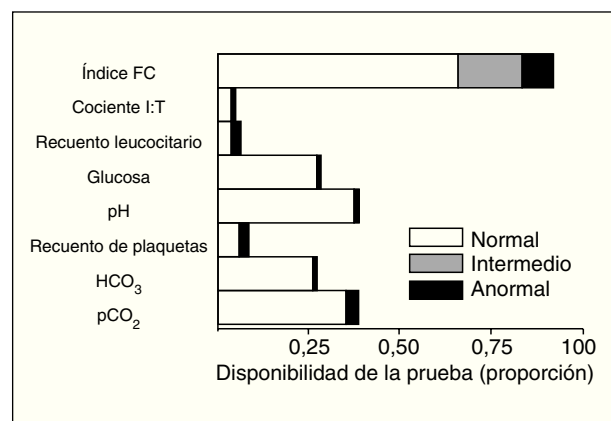


Fig. 1. Disponibilidad de las pruebas en todo el período de estudio. Los resultados de las pruebas se consideraron válidos durante 6 h. Las partes no sombreadas representan resultados normales; las porciones sombreadas resultados intermedios (sólo para el índice FC) o anormales. Los valores de alto riesgo del índice FC fueron superiores al percentil 90, y los intermedios entre los percentiles 70 y 90. FC: frecuencia cardíaca.

Disponibilidad de la monitorización de las FC y las pruebas de laboratorio

Como se muestra en la figura 1, se dispuso de la monitorización de las FC en el 92% de las ocasiones. La falta de respuesta para el porcentaje restante se debió a que dicha monitorización no estaba disponible en la UCIN, la mala calidad de la onda del ECG o la fragilidad cutánea, que impidió el empleo de electrodos cutáneos. Según nuestra definición, el resultado fue de "alto riesgo" en el 10% de los casos. Si la duración de un resultado de pruebas de laboratorio fue de 6 h, se dispuso de pruebas de laboratorio entre el 4 y el 38% de las ocasiones, y fue anormal en el 3%.

Algunas pruebas de laboratorio se tomaron con mayor frecuencia cerca del momento de la sepsis, tal como se muestra en la figura 2. En esta figura la línea superior de cada cuadro corresponde a la proporción de episodios de sepsis con resultados de las pruebas de laboratorio. Las zonas oscuras constituyen la proporción de episodios con una prueba anormal. Los hemocultivos por sospecha de sepsis se tomaron en el momento 0. Se dispuso del índice FC (A) en la mayoría de las ocasiones, con un aumento gradual antes de la enfermedad, como habíamos observado^{10,11}. Durante las 6 h siguientes al hemocultivo positivo, el 42% de las lecturas estuvo en el rango de alto riesgo y otro 30% en el rango medio. Los hemogramas con fórmula se tomaron con mayor fre-

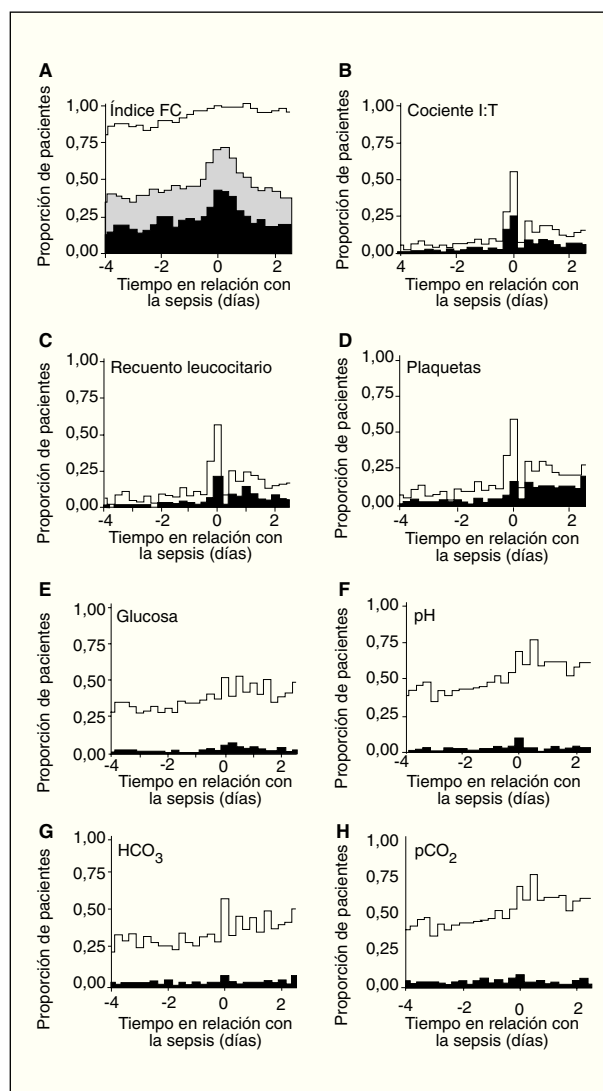


Fig. 2. Disponibilidad de las pruebas cerca del momento de la sepsis. La línea representa la proporción de pacientes con resultados de las pruebas para su interpretación; las áreas sombreadas representan la proporción de pacientes con resultados anormales. Se dispuso del índice FC (A) en la mayoría de las ocasiones, y aumentó antes de la enfermedad clínica. El área negra representa los resultados de FC de alto riesgo (superiores al percentil 90), y el área gris representa el riesgo intermedio (entre los percentiles 70 y 90). El cociente I:T (B), el recuento leucocitario (C) y el de plaquetas (D) se determinaron, por lo general, cerca del momento de la sepsis, y la mayoría de los valores anormales corresponden a este período. Otras pruebas se tomaron más a menudo, y cerca del momento de la sepsis hubo más valores anormales de glucosa (E) y pH (F), con cambios menos notorios en el HCO_3 (G) y la pCO_2 (H). FC: frecuencia cardíaca.

cuencia al sospechar la sepsis (B-D). Por tanto, la mayoría de las determinaciones del cociente I:T fueron realizadas en las 6 h siguientes al hemocultivo, y el 44% fueron anormales. Las demás pruebas de laboratorio analizadas se tomaron de manera más uniforme (E-H), con una concentraciones de valores anormales de glucosa y pH cerca del momento de la sepsis.

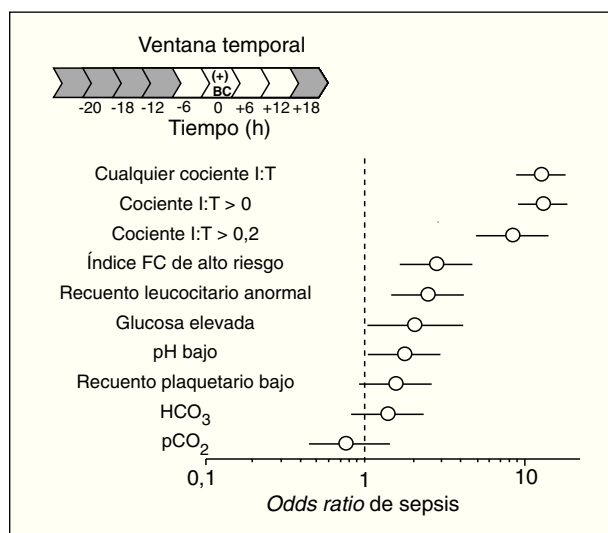


Fig. 3. Rendimiento de la monitorización de la FC y de las pruebas de laboratorio al evaluar los datos entre 6 h antes y 18 h después de la toma del hemocultivo positivo, como se señala en la línea temporal. Los círculos corresponden a la odds ratio de sepsis, y las líneas a los intervalos de confianza del 95%. FC: frecuencia cardíaca.

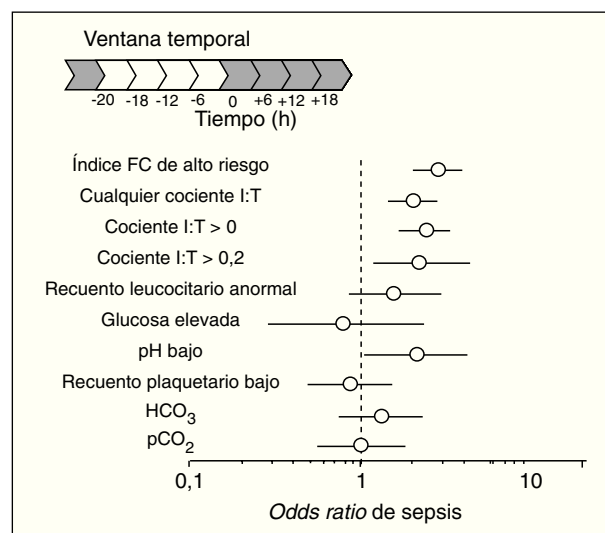


Fig. 4. Rendimiento de la monitorización de la FC y las pruebas de laboratorio al evaluar los datos de las 24 h precedentes al hemocultivo positivo (sin incluir el momento de la toma), como se señala en la línea temporal. Los círculos corresponden a la odds ratio de sepsis, y las líneas a los intervalos de confianza del 95%. FC: frecuencia cardíaca.

Monitorización de las FC y pruebas de laboratorio cerca del momento de la sepsis neonatal

En la figura 2 B-D se muestra un brusco aumento del número de hemogramas obtenidos en el bloque de 6 h en que se tomó el hemocultivo por sospecha de sepsis y en las 6 h precedentes. La interpretación es que los médicos solicitaron hemogramas y hemocultivos —de forma simultánea o tras obtener el resultado u observar nuevos cambios clínicos— cuando el recién nacido comenzó a mostrar signos de enfermedad. Para comparar el índice FC y las pruebas de laboratorio en esta situación, analizamos una ventana de 24 h que incluyó estos 2 bloques de 6 h y los 2 bloques de 6 h siguientes.

La significación de los cambios del índice FC y de los resultados de laboratorio se determinó mediante el análisis de regresión, cuyos resultados se muestran, en forma de *odds ratio* (OR), en la figura 3. La línea superior indica la ventana temporal en la que se evaluó la asociación de las FC y las pruebas de laboratorio con la sepsis. El cociente I:T, el índice de alto riesgo de las FC y el hemograma anormal mostraron una asociación muy significativa con el diagnóstico de sepsis. El aumento de la glucosa y la disminución del pH también se asociaron significativamente con la sepsis, pero no la pCO₂ elevada y el bajo HCO₃, incluso tras variar los umbrales de la normalidad. Es interesante señalar que cualquier resultado del cociente I:T mostró una intensa asociación con la sepsis, incluido el valor 0, y que el valor límite de 0,2 no ayudó a aumentar la asociación. Por tanto, la decisión del clínico de solicitar un hemograma se asoció con la sepsis, pero no el cociente I:T.

Para comprobar la idea de que la monitorización de las FC podría añadir nueva información porque no precisa la decisión médica de solicitar una prueba, repeti-

mos el análisis en una ventana de ensayo anterior a 24 h que finalizase antes del bloque de 6 h en que se tomó el hemocultivo por sospecha de sepsis. Ésta es la ventana temporal utilizada para el desarrollo y la validación del índice FC¹¹, en la que omitimos a propósito los datos del bloque de 6 h en que se tomó el hemocultivo. Esta ventana temporal aparece en la parte superior de la figura 4 y se superpone durante 6 h con la analizada anteriormente, período en el que se tomaron la tercera parte de las pruebas de laboratorio. Como muestra la figura 4, la OR del índice FC no varió, al tiempo que disminuyeron todas las demás. Sólo el cociente I:T y el pH bajo siguieron significativamente asociados con el hemocultivo positivo posterior.

Las FC y las pruebas de laboratorio aportan información independiente

En la tabla 2 se muestran los resultados del modelo de regresión logística para comprobar las hipótesis sobre la asociación entre los resultados de las pruebas de laboratorio y las FC con la sepsis. Las variables se añadieron de forma individual o en grupo para comprobar la presencia de información independiente, y las pruebas

TABLA 2. Análisis de regresión de la frecuencia cardíaca y las pruebas de laboratorio antes de la sepsis

Modelo	Factor de predicción 1	Factor de predicción 2	ROC	p1	p2
1	Pruebas anormales		0,75	*	
2	FC de alto riesgo		0,73	*	
3	Pruebas anormales	FC de alto riesgo	0,82	*	*

FC: frecuencia cardíaca.

p1: valor de p en el modelo global; p2: valor de p de la información añadida por la FC a las pruebas de laboratorio. *p < 0,001.

anormales se asociaron significativamente con la sepsis (modelo 1). El índice FC de alto riesgo también mostró una asociación significativa con la sepsis (modelo 2) y añadió información independiente a las pruebas de laboratorio (modelo 3). Los modelos que incorporaron tanto las pruebas de laboratorio como las FC tuvieron muy buen rendimiento, con un área ROC superior a 0,82. En otras palabras, un modelo de predicción escogido al azar en un momento cercano a la sepsis superaría a cualquier otro resultado, elegido de forma aleatoria, en el 82% de las ocasiones. Con el análisis de los resultados de laboratorio como variables continuas se obtuvo resultados similares, excepto en el recuento leucocitario, que no mostró una asociación significativa con la sepsis. Atribuimos esta situación a que los valores anormalmente disminuidos o aumentados del recuento leucocitario pueden asociarse con la enfermedad, por lo que no hay una relación lineal simple entre el recuento leucocitario y el riesgo de sepsis.

DISCUSIÓN

Estudiamos las características de la FC y las pruebas de laboratorio para el diagnóstico y la predicción de la sepsis neonatal en una UCIN de asistencia terciaria. Confirmamos los hallazgos de Fanaroff et al en la NICHD Neonatal Research Network, es decir, que el cociente I:T, el recuento leucocitario anormal, la hiperglucemia y el pH bajo mostraron una asociación significativa con la sepsis neonatal⁷. Un nuevo e importante hallazgo fue que el índice FC, que se obtiene mediante la monitorización continua e incruenta, añade información independiente a las pruebas de laboratorio convencionales.

Nuestro estudio difiere del de Fanaroff et al en las ventanas temporales en que se analizaron los resultados. El estudio anterior analizó los resultados de las pruebas de laboratorio en una sola ventana temporal de 48 h, desde 24 h antes a 24 h después del hemocultivo positivo. Nosotros analizamos 2 ventanas de 24 h y observamos que los resultados de las pruebas de laboratorio, excepto el pH, tuvieron mejor rendimiento en la ventana de 24 h posterior y poco antes del hemocultivo positivo. Su rendimiento disminuyó en la ventana de 24 h que llegó, pero no incluyó, al momento del hemocultivo positivo. Es interesante resaltar que el rendimiento del índice FC fuera el mismo en ambas ventanas temporales.

Limitaciones

En este estudio observacional, los médicos solicitaron pruebas sanguíneas cuando estuvieron clínicamente indicadas. Las solicitadas con mayor frecuencia para evaluar a un recién nacido con sospecha de sepsis fueron el hemograma y la fórmula leucocitaria, de forma que los resultados del cociente I:T tuvieron más probabilidades de tomarse cerca del momento de la enfermedad. Además, observamos que la presencia de un mal resultado del cociente I:T era útil, superase o no el límite habitual de 0,2. Una comparación más exhaustiva requeriría la realización de pruebas sanguíneas durante 24 h, un objetivo prácticamente inabordable.

Otra limitación de nuestro estudio es la ausencia de proteína C reactiva y de las nuevas pruebas de la sepsis

neonatal, que probablemente también ofrecen información en el diagnóstico temprano⁵, pero no se utilizan de forma habitual en nuestro hospital.

¿El índice FC es una ayuda útil para valorar el riesgo de sepsis neonatal?

Desde hace tiempo, las pruebas de detección sistemática de episodios poco frecuentes constituyen importantes ayudas diagnósticas, pero la mayoría de los resultados positivos son falsos. Aunque muchos recién nacidos tengan episodios de sepsis, la enfermedad no es frecuente: encontramos 149 episodios de sepsis en 49 recién nacidos-año, cerca de 1 episodio por recién nacido cada 4 meses. Esto contrasta con los resultados recientemente publicados por Stoll et al, de la NICHD Neonatal Research Network, que encontraron una tasa de 1 hemocultivo positivo cada 10 meses en todos los recién nacidos de MBPN². La tasa máxima fue de 1 infección cada 6 meses en el grupo de menor peso al nacimiento, 400-500 g. Como el índice FC se calcula cada 6 h, y esperamos anomalías de las FC durante 12-24 h antes del diagnóstico clínico, esperamos 4 pruebas "positivas" en cada varios centenares de mediciones, una tasa de episodios inferior al 1%. Desde este punto de vista, la enfermedad clínica de la sepsis neonatal ocurre con poca frecuencia.

Así pues, la monitorización de las FC es una prueba sistemática para una enfermedad poco frecuente, y esperamos que no todas las lecturas anormales indiquen una sepsis inminente u otros episodios indeseables. El espíritu de su empleo debe ser que las lecturas anormales indican un riesgo de estos episodios superior al esperado. De esta manera, la monitorización de las FC es similar a la determinación de los valores de troponina en los adultos con dolor torácico, de los valores de proteína C reactiva o las puntuaciones del calcio en la tomografía computarizada con haz de electrones en los adultos con factores de riesgo de arteriopatía coronaria, el anticuerpo prostático específico en los varones o la resonancia magnética corporal en la población asintomática.

Este estudio no aborda la importante cuestión de si un hemocultivo en un recién nacido séptico, tomado antes de los signos clínicos sólo por el aumento del índice de FC, sería o no positivo. Éste será el tema de futuros estudios clínicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hamilton Be, Martin JA, Sutton PD. Births: preliminary data for 2002. Natl Vital Stat Rep. 2003;51:1-20.
2. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. Pediatrics. 2002;111 Suppl:285-91.
3. Polin RA. The "ins and outs" of neonatal sepsis. J Pediatr. 2003;143:3-4.
4. Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. Clin Perinatol. 1991;18:361-81.
5. Malik A, Hui CP, Pennie RA, Kirpalani H. Beyond the complete blood cell count and C-reactive protein: a systematic review of modern diagnostic tests for neonatal sepsis. Arch Pediatr Adolesc Med. 2003;157:511-6.
6. Baltimore RS. Neonatal sepsis: epidemiology and management. Paediatr Drugs. 2003;5:723-40.
7. Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, et al. Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset

- septicemia in very low birth weight infants. The National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:593-8.
8. Bone RC. Important new findings in sepsis. *JAMA*. 1997; 278:249.
 9. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*. 1997;112: 235-43.
 10. Griffin MP, Moorman JR. Toward the early diagnosis of neonatal sepsis and sepsis-like illness using novel heart rate analysis. *Pediatrics*. 2001; 107:97-104.
 11. Griffin MP, O'Shea TM, Bissonette EA, Harrell FE Jr, Lake DE, Moorman JR. Abnormal heart rate characteristics preceding neonatal sepsis and sepsis-like illness. *Pediatr Res*. 2003;53:920-6.
 12. Griffin MP, O'Shea TM, Bissonette EA, Harrell FE Jr, Lake DE, Moorman JR. Abnormal heart rate characteristics are associated with neonatal mortality. *Pediatr Res*. 2004;55:782-8.
 13. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control*. 1988;16:128-40.
 14. Kovatchev BP, Farhy LS, Cao H, Griffin MP, Lake DE, Moorman JR. Sample asymmetry analysis of heart rate characteristics with application to neonatal sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Pediatr Res*. 2003;54: 892-8.
 15. Lake DE, Richman JS, Griffin MP, Moorman JR. Sample entropy analysis of neonatal heart rate variability. *Am J Physiol*. 2002;283:789R-97R.
 16. Richman JS, Moorman JR. Physiological time series analysis using approximate entropy and sample entropy. *Am J Physiol*. 2000; 278:2039H-49H.