

**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

Драгана М. Савић

**ЗНАЧАЈ ОДРЕЂИВАЊА СОЛУБИЛНОГ CD14 ПОДТИПА-
ПРЕСЕПСИНА У ТРАХЕАЛНОМ АСПИРАТУ У
ДИФЕРЕНЦИЈАЛНОЈ ДИЈАГНОЗИ ИНФЕКЦИЈЕ
НОВОРОЂЕНЧЕТА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

КРАГУЈЕВАЦ 2018.

1.УВОД

Неонатална сепса (НС) је клинички синдром који настаје као последица патофизиолошког одговора на присуство микроорганизама или њихових токсина током првих 28 дана живота. Она витално угрожава новорођено дете системским поремећајима и заузима друго место у морбидитету и морталитету новорођенчади. Зато је рана дијагноза важна како би се започело адекватно лечење (1, 2).

Важан узрок неонаталне инфекције је неонатална пнеумонија (3). Процењује се да је неонатална инфекција узрок 750 000 до 1,2 милиона неонаталних смртних случајева годишње. Ризик морталитета пнеумоније је већи код појаве ране упале плућа и међу новорођенчадима ниске порођајне тежине (3).

Сепса присутна у прва 3 дана живота дефинише се као рана сепса (eng. *early-onset sepsis*) и настаје колонизацијом *in utero* или при проласку кроз порођајне канале мајке. Након трећег дана живота НС се дефинише као касна (eng. *late-onset sepsis*) (4).

Претерминску новорођенчад карактерише појава теже и пролонгиране имунодефицијенције, што повећава ризик за генерализовану инфекцију након покретања инфламаторног процеса, због чега су ова деца сврстана у посебно осетљиву категорију (2).

Значај изучавања проблема НС проистиче из: пораста броја оболелих, тешког постављања ране дијагнозе, недостатка стандардне класификације, високог морталитета. Упркос бројним клиничким испитивањима и напорима да се поставе стандарди дијагностиковања, дијагнозу сепсе је тешко брзо поставити. Проблем представља неспецифична клиничка

слика, која се може манифестовати као слабо напредовање у телесној маси, проблеми са слухом или мождане дисфункције (5, 6).

Идентификација новорођенчади која су у ризику од настанка ране неонаталне сепсе (РНС), често се заснива на анализи перинаталних фактора ризика, који нису ни специфични ни сензитивни. Дијагностички тестови за неонаталну сепсу имају малу позитивну предиктивну вредност. Због тога, у пракси се често новорођенчад сумњива на НС лече дужи временски период иако су све микробиолошке културе стерилне. Новије студије указују на повезаност пролонгиране емпиријске терапије (*Ampicilin*, аминогликозид) дуже од 5 дана и високог ризика за настанак касне НС, некротизирајућег ентероколитиса и повећаног морталитета (7).

Пре рођења фетус је у стерилној средини. Микроорганизми који узрокују рану НС најчешће продиру из порођајних канала мајке као последица интраамнионске инфекције, тј хориоамнионитиса. Интраамнионска инфекција захвата амнионску течност, мембране, плаценту и/или децидуу и настаје као последица руптуре амнионске мембране или током „цурења“ амнионске течности. Рано настале инфекције новорођенчета најчешће су повезане са хориоамнионитисом, а добијене су од бактеријске инфекције амнионске течности или колонизацијом током проласка кроз инфициране порођајне канале. РНС као и рано настала пнеумонија (током првих 7 дана живота), могу настати и *in utero* када фетус инхалира или прогута амнионску течност, као и у првим сатима након рођења колонизацијом коже или мукозних површина (3, 7).

У патогенези ране пнеумоније, која се јавља током првих 7 дана живота, перинатални фактори су од посебне важности. Хориоамнионитис је један од кључних фактора ризика. Упала децидуа и хориоамнионских мембрана често доводи до инвазије микроба на

фетоплаценту јединицу и може бити праћена синдромом инфламаторног одговора фетуса (ФИРС), који индукује структурално преуређивање плућа, поједностављујући ћелијску структуру и касније повећава ризик од пнеумоније (8). Отежавајући фактор је превремена руптура мембрана. Код новорођенчади из ове трудноће забележена је већа инциденца пнеумоније и нижа оцена на рођењу (*Apgar score*) у петом минути (3).

Главни фактори ризика за касну пнеумонију, укључујући и пнеумонију узроковану механичком вентилацијом, су прематуритет, ниска порођајна телесна маса и трајање механичке вентилације. Будући да су ови ризици често корелирани, тешко је коначно утврдити независни допринос сваког од њих, а различите студије су постигле различите закључке (9).

Касно настале пнеумоније резултат су колонизације орофарингеалне слузнице потенцијалним патогеном, који се затим шири на доњи део респираторног тракта, где неадекватна имунолошка одбрана дозвољава дисеминацију. Настале у болничким условима, називају се нозокомијалне и разликују се од касних пнеумонија насталих након дисеминације патогена. Мулти- резистентни сојеви бактерија су најчешћи узрочници нозокомијалних пнеумонија, најчешће у вези са механичком вентилацијом (9).

Егзогени фактор колонизације орофаринкса који се компликује пнеумонијом су прљаве руке и контаминирани површине. Главни ендогени извори микроорганизама који су одговорни за касну пнеумонију су носна и орофарингеална слузокожа. Рефлукс и аспирација контаминираних гастричних секрета представљају још један потенцијални пут плућне инфекције, али тачна улога желудачних бактерија у патогенези пнеумоније остаје необјашњена (9). Показано је да трахеални аспират код интубиране новорођенчади садржи

гастрични пепсин, чија концентрација управо зависи од положајне елевације главе новорођенчета (10).

Постоји јак доказ да неадекватна хигијена руку представља главни допринос неонаталној нозокомијалној пнеумонији. У већем ризику за ослобађањем секрета из орофаринкса су новорођена деца интубирана тубусима без кафа - зато је важно подигнуто узглавље и редовна тоалета (9).

Хориоамнионитис се у клиничкој пракси дефинише као инфекција коју карактерише фебрилност мајке већа од 38°C и најмање 2 од следећих критеријума: леукоцитоза (>15000Le/mm³), фетална тахикардија (>160/мин), утерусна тврдоћа и непријатан мирис амнионске течности. Инциденца клиничког хориоамнионитиса обрнуто је пропорционална гестационој старости (7). Уколико су плодови овојци интакти у свега 1% трудноћа потврђен је хориоамнионитис. Нешто је већи проценат уколико дође до превремене руптуре плозових овојака (eng. *premature rupture of membranes*, PROM). Ранији прекид трудноће повећава ризик од колонизације амнионске течности. Примећено је да у скоро 1/3 превремено завршених трудноћа са интактним плозовим овојцима и у чак 3/4 трудноћа где је забележен PROM постоји колонизација амнионске течности (7).

Поједини патогени (*Mycoplasma species*, *Ureaplasma species*) узрокују бактеријемију код превремено рођене деце са ниском телесном масом (ТМ<1500g). *Group B streptococcus* (GBS) изолован из амнионске течности повећава учесталост НС на 20%, чак и до 30%-55% уколико је дошло до PROM-а (7).

Polin и сарадници као главне факторе ризика настанка РНС наводе превремени порођај, руптуру плозових овојака дуже од 18 сати, као и матерналне знаке и симптоме интраамнионске инфекције (7).

Неспецифичност клиничких симптома инфекције новорођенчета предмет су бројних испитивања. Последњи радови указују на тесну везу неуротоксичних ефеката локално високих вредности цитокина и интравентрикуларне хеморагије. Локално високе вредности цитокина доводе до вазодилатације и хемодинамске нестабилности што резултира интракранијалном хеморагијом код превремено рођене деце (11). Високу сензитивност и негативну предиктивну вредност, чак са 100% показују високе вредности IL-6 и IL-10 код новорођенчади која ће добити дисеминовану интраваскуларну коагулопатију (12).

Како је инфекција новорођенчета, упркос примене широког спектра антибиотика, још увек узрок високог морбидитета и морталитета новорођенчади, значајно је поменути факторе који су у тесној вези са високом осетљивошћу новорођенчета на инфекције. Пре свих треба поменути прематуритет, што подразумева незрелост имунског система укључујући и веома малу порођајну телесну масу (13). Такође су значајни и фактори који потичу од стране мајке и инвазивне процедуре у првим данима живота (катетеризација умбиликалних крвних судова, интубација или реинтубација, апликација сурфактанта и др) (5).

Перинатални узроци или фактори од стране мајке заузимају значајно место у постављању ране дијагнозе и благовременом почетку терапије. У те факторе спадају превремено прснуће плодових овојака, висока фебрилност мајке, генитална колонизација мајке, превремени порођај (1, 5).

Обзиром на могуће фаталне исходе неонаталне сепсе, након препознатих клиничких знакова и симптома започиње се са антимикробном терапијом. Најчешћи знаци и симптоми неонаталне инфекције су капиларно пуњење дуже од 3 сек, сиво- пепељаста

боја коже, хипотензија, хипо или хипертермија, плитко дисање, хипотонија, повраћање, дистензија абдомена, потреба за механичком вентилацијом, тахипнеа, бради или тахикардија, епизоде апнее, кризе свести, неочекивана метаболичка ацидоза (14).

Посебна пажња поклања се незрелом имунском систему. Током трудноће фетус живи у стерилној средини амниона и амнионске течности испуњене са антимикробним протеинима и пептидима (eng. *antimicrobial proteins and peptides*, APP). Након рођења, прву заштиту од инфекције обезбеђују интестинална и респираторна баријера као и кожа. Верникс је добра заштита предтерминској и терминској новорођенчади, али је одсутан код превремено рођене деце, посебно пре 28 недеље гестације. Он поред механичке баријере садржи и APP. Незрео површински рожаста слој коже (lat. *stratum corneum*), који спречава инвазију микроорганизама, код превремено рођене деце пуну функцију остварује тек за 2 недеље постнаталног живота. Код екстремно незреле деце, тај период је дужи и до 8 недеља. Велика густина фоликула длаке новорођенчета представља идеалан резервоар за бактерије које колонизују кожу, као што је *Staphylococcus epidermidis* (15). У Одељењима интензивних неонаталних нега (ОИНН) примена интравенских канила је неопходна за одржавање виталних функција. Њихова примена и чест новорођеначки раш чине кожу пропустљивом за микроорганизме чиме се шансе за развој инфекције повећавају (16).

Од првог дана рођења почиње успостављање нормалне микрофлоре слузница. Очувана слузница посебно је важна код новорођенчади која у првим данима живота бораве у ОИНН, јер спречава ширење микроорганизама и развој инфекције. Обзиром на чињеницу да је некротични ектоколитис једно од најтежих стања у неонатологији, очување интегритета слузнице има велики значај. Хипоксија, дуготрајна примена антибиотика и ширење инфекција са других места “разарају” интегритет интестиналне мукозе (15).

Свакодневно фетус прогута око 500 до 1000 мл амнионске течности, тако да присуство леукоцита у амнионској течности подразумева присуство истих у гастричном аспирату новорођенчета. Обзиром да су леукоцити одраз мајчиног имунског одговора на инфламацију нису у корелацији са НС (7).

Најчешће улазно место патогена ипак представља слузница респираторног тракта. Након рођења функцију респираторне слузнице оштећују дефицит сурфактанта, појачана продукција мукуса, интубација и механичка вентилација, које су удружене са смањеним мукоцилијарним клиренсом и иритацијом дисајних путева. Додатан проблем представља физичко оштећење плућа изазвано баротраумом, ателектазама као и хемијско оштећење (оксигено терапија, давање сурфактанта и сл). Дефицит сурфактанта повлачи и дефицит његових протеина А и Д, који имају значајну заштитну улогу (15). Комерцијални препарати припремљени за егзогено давање сурфактанта, због деструкције протеина током процеса израде, не садрже поменуте протеине. Физиолошки процес сазревања плућа једино обезбеђује ове протеине. Смањен мукоцилијарни клиренс и дефицит протеина, удружени са инванзивним мерама реанимације у ОИИИ, компромитују заштитну улогу респираторне слузнице (15). Тиме она постаје подложна за инвазију микроорганизама, а тиме се повећава и шанса за неонаталном сепсом и неонаталним пнеумонијама. Културе и бојење по *Grami* трахеалног аспирата, могу бити од значаја само ако се узму одмах након пласирања ендотрахеалног тубуса. Ако је новорођенче интубирано више дана, налаз није валидан (7).

Код превремено рођене деце имунодефицијенција је тежа и пролонгирана што повећава ризик за генерализовану инфекцију (2, 13). Квалитативни и квантитативни дефицит у фагоцитози и хуморалним компонентама, могу објаснити немогућност обезбеђивања

адекватног урођеног имунског одговора. Кључну улогу имају молекуларни механизми укључени у иницијалној фази SIRS-а (eng. *systemic inflammatory response syndrome*, SIRS). У незрелом имунском систему многи рецептори су укључени у препознавање микроорганизама. Ћелије домаћина створиле су читав низ специфичних рецептора за препознавање високо конзервираних образаца (eng. *pathogen associated molecular patterns*, PAMP) који представљају молекуларне структуре које су есенцијалне за опстанак микроорганизама (17).

Рецептори слични Toll-у (eng. *Toll like receptors*, TLR) су специфични за различите компоненте микроорганизама. До данас је откривено 13 различитих врста ових рецептора. Истраживања су показала да TLR2 високо специјализован за идентификацију пептидогликана и липопептида G⁺ бактерија. TLR4 је део рецепторског комплекса за препознавање липополисахарида (енг. *lipopolysaccharide*, LPS) G⁻ бактерија (9). Везујући се за TLR4 липополисахарида G⁻ бактерија узрокује повећање синтезе IL-1 β и хуманог Б дефензина, ензима који ствара поре на мембрани бактерије изазивајући осмотску лизу бактерије (18). Ангажовањем ових рецептора активирају се транскрипциони фактори који доводе до експресије гена који кодирају ензиме, цитокине и друге протеине укључене у антимикуробне функције активираних фагоцита и дендритских ћелија. Активирани транскрипциони фактори, покрећу и различите генетске програме који укључују и активацију хемокина MIP (eng. *macrophage inflammatory protein*) и RANTES (eng. *regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*) (19).

Испитивања улоге TLR 2 И TLR 4 код новорођене деце као и деце са дијагностикованом неонаталном сепсом показали су интересантне резултате. Viemann и сарадници мерили су методом проточне цитометрије експресију поменутих рецептора на гранулоцитима и

моноцитима здраве новорођене деце, а затим и код новорођене деце оболеле од неонаталне сепсе. Показали су да је базална експресија TLR2 иницијално нижа код новорођене деце, док промена није нађена у експресији TLR4. Такође анализирајући експресију TLR2 код новорођене деце оболеле од НС у поређењу са вредностима IL-6 и IL-8 дошло се до закључка, да се TLR2 може користити као релевантан параметар у постављању ране дијагнозе неонаталне сепсе, само када су приметни почетни симптоми, што се не може рећи са TLR4 (17). Друга испитивања показала су високу корелацију експресије TLR4 и гестационе старости (20).

У литератури се наводи утицај хијалурона, ендогеног медијатора запаљења полисахаридне структуре на експресију TLR2 и TLR4 на површини моноцита. У огледима рађеним у *ex vivo* условима, показано је значајно смањење експресије TLR4, док је експресија TLR2 остала непромењена у присуству хијалурона (21).

Миграција леукоцита на место запаљења представља основ урођеног имунског одговора. Хемокини као хемотактички цитокини контролишу миграцију леукоцита и играју значајну улогу у успостављању инфламације. Издвојене су 2 групе хемокина α хемокини задужени за миграцију неутрофила и β хемокини који привлаче лимфоците, моноците, еозинофиле, базофиле и урођено убилачке ћелије (eng. *natural killer cells*, NK). Незрелост имунског система и хемотаксе код новорођенчета, посебно код превремено рођене деце, доприносе њиховој осетљивости на инфекције (22). Неколико студија показују улогу хемокина у неонаталној сепси. Мацога и сарадници испитивали су серумски ниво α хемокина (GRO- α i ENA-78) и β хемокина (RANTES и MIP-1 α). Интересантан је закључак да терминска и превремено рођена деца имају исту експресију хемокина. Такође су показали да је у групи новорођене деце оболеле од неонаталне сепсе серумска концентрација GRO- α повишена,

док је концентрација RANTES иницијално нижа у поређењу са неинфективном новорођеном децом. Праћењем вредности истих хемокина током лечења није нађена значајна разлика у односу на неинфицирану новорођену децу (22). Зато би одређивање серумске концентрације GRO- α и RANTES имало значаја у раном постављању дијагнозе, али не и у праћењу исхода лечења.

T лимфоцити настају још у 8- ој недељи гестације из жуманчане кесе. Своје сазревање *in utero* настављају у тимусу, тако да тимус фетуса између 12 и 16 недеље гестације садржи T лимфоците у свим фазама сазревања. У новорођеначком периоду пролиферација T лимфоцита је снижена. Број CD4⁺ лимфоцита је већи код новорођенчета, посебно код превремено рођене деце, у односу на број CD8⁺ лимфоцита (23). Током живота овај однос се мења у корист CD8⁺ T цитотоксичних лимфоцита (24).

Поуздан метод за рано постављање дијагнозе неонаталне сепсе је одређивање активираних T лимфоцита. Хумани T лимфоцити могу бити подељени у различите субсетове експресијом изоформи заједничког антигена за леукоците, CD45. Изоформа CD45RA се експримира на наивним T ћелијама, док меморијске T ћелије на својој површини приказују CD45RO маркер. Меморијске T ћелије, остају дуже у организму и након поновне антигенске стимулације обезбеђују јачи, ефикаснији и специфичнији имунски одговор. Сматра се да након антигенске стимулације микроорганизмом настаје „свичовање“ изоформи од CD45RA до CD45RO (5).

Ради евалуације експресије субсетова T лимфоцита Augun и сарадници су одређивали укупну и процентуалну заступљеност CD4⁺, CD45RO⁺ и CD45RA⁺T лимфоцита као и њихов значај у развоју НС. Посебно су обрађивали три групе новорођене деце са клиничким знацима сепсе- са и без позитивне хемокултуре, као и контролну групу здраве

новорођенчади. Током неонаталне сепсе субсетови Т лимфоцита показују значајне разлике у односу на њихову заступљеност код здраве новорођене деце. Процентуална заступљеност CD45RA⁺ је била значајно нижа, док су проценатуалне вредности CD45RO⁺ биле значајно више код новорођенчади са позитивном хемокултуром (25). CD4⁺ субсетови Т лимфоцита су показали ниже вредности процентуално у групи деце са позитивном хемокултуром, а у апсолутном броју код новорођенчади са негативном хемокултуром (25) (26). Обзиром да је утврђивање процентуалне заступљености као и апсолутног броја појединих субсетова CD4⁺ субсетова Т лимфоцита могуће брзо одредити (значајно пре бактериолошке потврде) препоручује се као рани маркер неонаталне сепсе (5) (6).

Значајне информације о току болести могу показати и експресије CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ Т лимфоцита као и однос CD3⁺/CD4⁺ и CD4⁺/CD8⁺. У укупном броју једино CD4⁺ Т лимфоцити показују значајан пораст код новорођенчади оболеле од неонаталне сепсе. Однос CD3⁺/CD4⁺ и CD4⁺/CD8⁺ Т лимфоцита је значајно виши код новорођенчади оболеле од сепсе у односу на здраву новорођену децу. Одређивање ових параметара има специфичан значај, обзиром да перинатални фактори као што је асфиксија, гестациона старост и др. немају утицаја на њихове вредности (27).

Високу сензитивност и специфичност у постављању дијагозе неонаталне сепсе показује и експресија CD64 на површини неутрофила. Такође се може користити као значајан индикатор неонаталне сепсе у моменту када је и клиничка слика врло оскудна. Обзиром да је за анализу потребан мали волумен крви и да је врло поуздан параметар, препоручен је као маркер ране неонаталне сепсе. Бројна клиничка испитивања су рађена како би се установила корисност одређивања експресије CD64 на неутрофилима, појединачно и удружено са другим параметрима инфламације. Као најбоља, препоручена је комбинација

експресије CD64 на неутрофилима и вредности IL-6, IL-10 и C реактивни протеин (CRP) (26, 27, 28, 29).

Опстанак врста зависи од способности њеног имунског система да препозна патоген и да обезбеди непосредни и ефикасан одговор на инвазију патогена. Иmunски одговор је подељен на урођени и стечени имунски одговор. Иако се ова два одговора суштински разликују по рецепторима који препознају антигене као и ефекторским сигнаlima, оба одговора су тесно повезана. У односу на стечену, урођена имуност се ослања на брзу, ефикасну одбрану посредовану антимикуробним пептидима, алтернативном активацијом комплемента и фагоцитима (30).

Ови ефекторски механизми омогућавају брзу контролу ширења и размножавања патогена. Активација урођене имуности започиње након признавања образаца микроорганизама рецепторима на мембрани моноцита/макрофага. Рецептори урођене имуности су генетски дистрибуирани и они препознају широк спектар молекула који припадају већини патогена. Ово препознавање се базира на препознавању заједничких мотива који припадају различитим патогенима, односно PAMPs, који су високо конзервирани дуж еволуције (31). Активација рецептора урођене имуности води активацији унутарћелијских сигнала који промовишу експресију гена одговорних за одбрану домаћина, који укључују и гене који кодирају проинфламаторне цитокине. Ови рецептори су чланови фамилије рецептора сличних Toll-у (19).

Glikoprotein CD14 (енг. *cluster of differentiation 14*) јавља се у два облика као мембрански CD14 (mCD14) и солубилни CD14 (sCD14). Мембрански има висок афинитет према липополисахаридима, и углавном је експримиран на површини моноцита/ макрофага и у мањем проценту на површини неутрофила (32).

Солубилна форма се налази у плазми и настаје секрецијом или цепањем mCD14. У плазми здравих људи могу бити детектоване две врсте sCD14: 49kD и 55kD. Солубилни облик CD14 игра важну улогу у имунском одговору на LPS код CD14⁺ ћелија, као што су ендотелне и епителне ћелије. Катепсин D и друге протеазе у плазми цепају sCD14 и N-терминални фрагмент величине 13kDa представља sCD14 подтип (sCD14-ST) који се назива пресепсин (32, 33).

Као рецептор комплекса липополисахарид-липополисахарид везујући протеин (eng. *lipopolysaccharide binding protein*, LBP) тј. LPS-LBP комплекса, CD14 може активирати низ сигналних путева који активирају инфламаторну каскаду узрокујући системски инфламаторни одговор. Мембранска форма CD14 (356 аминокиселина, 55 kDa) има способност да препозна различите лиганде као што су, липиди, пептодогликан и друге површинске структуре и G⁺ и G⁻ бактерија. Најбоље проучен PAMP је бактеријски липополисахарид. Ефикасно препознавање LPS захтева његову удруженост са серумским протеином LBP; LBP приказује LPS, CD14 корецептору који је експримиран на спољашњој мембрани моноцита/макрофага (32, 33).

CD14 је укључен у презентацију LPS и активно учествује у сигналној трансдукцији која води продукцији цитокина. Молекулу CD14 недостаје трансмембрански домен и не може да преноси сигнал сам по себи. Захваљујући својој липидној структури карбокси терминални крај који је усидрен у ћелијску мембрану спроводи сигнал кроз рецептор TLR4. Везивање TLR са комплексом CD14-LPS-LBP активира интрацелуларне сигнале и следствени одговор. Ангажовање CD14 активира адаптерне протеине који су одговорни за производњу протеина који учествују у одбрани домаћина од патогена. Низводна активација тирозин протеин киназа и митогеном-активираних протеинских киназа

узрокује активацију нуклеарног транскрипционог фактора (eng. *nuclear transcription factor* κB , NF- κB) и следствено ослобађање цитокина као што су ослобађања цитокина као TNF- α (eng. *tumor necrosis factor* α), IFN- γ (eng. *interferon* γ), IL-1 β , IL-8 и IL-6 (34) (33).

Надаље, активирање секундарне инфламаторне каскаде и стечени имунски одговор стимулишу моноклеарне макрофаге, неутрофиле и ендотелијалне ћелије да ослободе више цитокина и адхезионих молекула који додатно привлаче ћелије које учествују у инфламацији (33).

Овако настао интензиван и прекомеран системски инфламаторни одговор као и активација коагулационог и фибринолитичког система, резултира настанком SIRS-а, септичког шока, дисеминоване интраваскуларне коагулације и синдрома мултипле органске дисфункције (MODS) (35, 36).

Након TLR4 активације, моноцити/макрофаги започињу фагоцитозу микробних честица повезаних за рецептор. Молекула CD14 је одговоран за промене у ћелијској машинерији која контролише ендоцитозу посредовану TLR након стимулације LPS. Након везивања LPS, мембранска експресија CD14 на мембрани моноцита се смањује. Ово смањење је повезано са цепањем. CD14 подлеже протеолизи након излагања LPS што узрокује ослобађање различитих фрагмената величине 47kD и 30kD. Солубилни облици CD14 могу да се детектују у системској крви. Интернализација CD14 је такође значајна за смањену експресију овог молекула на површини мембране (32, 34).

CD14 је дистрибуиран у кавеолама (*caveolae*, латински назив за "мале пећине"), малим инвагинацијама на плазма мембрани и другим ћелијским одељцима. Молекулски комплекс CD14-LPS-LBP се такође интернализује у један фаголизозом. У овим органелама, комплекс CD14-LPS-LBP подлеже ензимској обради која захтева катепсин D.

Поред тога, растворљив CD14 директно луче и хепатоцита. Протеолиза посредована катепсином D и другим протеазама као и интернализациони процеси CD14 молекула узрокују стварање малог растворљивог пептида величине 64 аминокиселина (13 kDa). Производ настао цепањем sCD14 молекула представља sCD14 подтип (sCD14-ST) који се назива пресепсин (32, 34).

Пресепсин се ослобађа у циркулацију протеолизом и егзоцитозом. Док биолошка активност пресепсина није детаљно разјашњена, зна се је да је овај CD14 фрагмент изгубио своју способност да веже LPS. Међутим, sCD14-ST је описан као значајан регулаторни фактор који може да модулише ћелијски и хуморални имунски одговор интеракцијом директно са T и B лимфоцитима, као и да смањи стопу морталитета узроковану ендотоксичним шоком и озбиљност инфекције (34).

Ниво циркулишућег пресепсина може да покаже активност моноцита/макрофага као одговор на патогене. Моноцити/макрофаги су нормално присутни у циркулацији и базична активација ових ћелија физиолошки постоји. Сходно томе, детекција пресепсина се очекује чак и код здравих пацијената. Концепт примене пресепсина као биомаркера сугерише да концентрација пресепсин треба бити детектована и код здравих особа; рано повећање његове концентрације указује на бактеријске инфекције и његово повећање зависи од интензитета урођеног имунског одговора (33, 37).

Неке клиничке студије су показале да је ниво sCD14 значајно повишен код пацијената са сепсом и септичким шоком у поређењу са здравим људима, што се значајно односи на озбиљност и прогнозу болести. Пресепсин се генерише у одговору тела на бактеријске инфекције, а фагоцитоза може играти главну улогу, иако није у потпуности јасно како се пресепсин производи у телу (32, 37, 38).

Мембрански CD14 је конститутивно експримиран на површини моноцита и макрофага дисајних путева. Солубилни sCD14 се такође налази у трахеалном аспирату. Конститутивни ниво mCD14 и sCD14 у дисајним путевима је позитивно повезан са одговором полиморфонуклеара. sCD14 у дисајним путевима се јавља претежно екстравазацијом из интраваскуларног компартмента и повезана је са повећаним пермеабилитетом дисајних путева (39).

Бројна истраживања упућују на значајну улогу цитокина у постављању дијагнозе, али и праћењу исхода лечења неонаталне сепсе (36).

Широки спектар инфламаторних маркера је предложен за дијагностиковање неонаталне сепсе и других инфекција (36). Chang и сарадници испитивали су утицај 26 биомаркера у циљу одређивања најсигнификантнијег маркера инфламације новорођенчета. Издвојено је 10 биомаркера који у имали мерљиве промене титра. Студија је показала да су се 3 маркера IL-6, IL-8 и GCSF (eng. *growth colony stimulating factor*, GCSF) издвојила као значајани маркери у постављању ране дијагнозе неонаталне инфекције, код новорођенчади хоспитализоване у јединицама интензивне неонаталне неге (ЈИНН) (11).

Серумски калпротектин, атимикробни пептид, главни је продукт урођених имунских ћелија. Током инфекције штити ћелије од инвазије микроорганизама и регулише адхезију леуцита на ендотел и екстрацелуларни матрикс. Лако се изолује из телесних течности, а лучи се одмах након продора микроорганизама. Као такав погодан је као маркер инфламације различитих инфекција. Истраживања у ОИИН последњих година, показала су његову високу специфичност и сензитивност у поређењу са другим маркерима инфламације. Препоручен је као поуздан маркер посебно код новорођенчади веома мале телесне масе (40).

Последњих година започета су испитивања о улози хијалурона, полисахарида екстрацелуларног матрикса и меких ткива, на имунски ситем новорођенчета. Osteorholt и сарадници показали су значајно нижу експресију TLR4 рецептора на површини моноцита у крви инкубираној хијалуроном велике молекуларне масе. Није уочена промена у експресији TLR2, док је ниво цитокина био значајно нижи. Испитивање је рађено у узорку крви пупчаника новорођенчади рођене царским резом. У експерименталним условима крв је инкубирана хијалуроном мале и велике молекуларне масе. Потребно је више студија да би се могао донети коначан закључак о могућој регулацији експресије TLR4 након третирања хијалуроном велике молекуларне масе (21).

Polin и сарадници у својој студији наводе да је низак број тромбоцита слабо сензитиван индикатор сепсе. Такође није користан у праћењу исхода лечења, јер остају сниженеи чак и недељама након излечења (7).

Укупан број леукоцита нема значаја у дијагнози НС. Бројни аутори су одређивали значај неутрофилног индекса (субкомпоненте беле лозе, укупан број неутрофила и однос незрелих и укупан број неутрофила (eng. *immature/total*, *I/T ratio*) у НС. Показало се да је као и већина других параметара значајнији маркер у искључивању новорођенчади без инфекције. Неутропенија се показала као значајнији маркер, обзиром да осим сепсе мали број стања доводи до ње (пreekлампсија, асфиксија и хемолитичка болест). На број неутрофила утичу гестациона старост (нижа гестација, мањи број неутрофила), начин порођаја (мањи број неутрофила код царског реза), места пункције за анализу (мањи број из аретријске крви) и надморске висине (већа висина већи број неутрофила). Као и укупан број, апсолутни број незрелих неутрофила има малу сензитивност у дијагностици НС. Једнократно одређивање односа И/Т има позитивну предиктивну вредност у 25%

случајева, али велику негативну предиктивну вредност (99%). Овај однос може бити повећан чак и код 50% неинфициране новорођенчади (7).

Златни стандард у дијагностиковању сепсе, па и НС представља позитивна хемокултура. На резултат овог дијагностичког теста понекад се дуго чека, па је и коначна дијагноза одложена. Културом се доказује НС у 2 на 1000 живо рођене деце. Од 7- 13% новорођенчади сумљивих на сепсу, свега 3- 8% има позитиван налаз у култури (41) (42).

Постоји велики број медијатора запаљења, али су CRP и прокалцитонин (PCT) најчешће испитивани.

CRP је реактант акутне фазе и ослобађа се у јетри. IL-6 и други проинфламаторни цитокини као што је IL-1 утичу на интрахепатичну продукцију CRP-а (8).

Услед одложеног почетка хепатичне продукције пораст ових реактаната код новорођене деце почиње 4- 6 часова након стимулације, а пик достижу након 48 сати. Иако је CRP широко коришћен у клиничкој пракси његова улога у диференцијацији између инфективних и неинфективних болести није баш поуздана (43). Његова сензитивност је најнижа у првим данима инфекције, док се дијагностичка тачност побољшава серијским мерењима или у комбинацији са неким другим параметрима, као што је IL-6 или PCT (44) (42). Код превремено рођене деце ниже су базичне вредности CRP-а као и његове вредности у инфекцији у односу на терминску новорођенчад. Зато раније препоручене *cut-off* вредности од 10mg/L нису валидне за превремено рођену децу (8).

Вредност CRP- а расте у првих 6 до 8 сати инфекције, а максималну вредност достиже након 24 сата. Најмању сензитивност има на рођењу јер је за његов скок потребно ослобађање IL-6 (45). Сензитивност значајно расте 6- 12 сати од почетка инфекције (7). То се може објаснити тиме да је јетри потребно 6- 8 сати да продукује CRP, а наредних 48- 72

сата да достигне пик у серуму (42). Hisamuddin и сарадници у својој студији наводе да процена само вредности CRP-а нема значаја у дијагностиковању НС (41). Само пораст вредности CRP-а нема довољну специфичност за дијагнозу неонаталне инфекције (46) (29). Сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност нису довољно високе да би се CRP могао сматрати довољно поузданим скрининг тестом. Клинички критеријуми удружени са хематолошким параметрима и вредностима CRP-а, могу се користити за праћење тока лечења новорођенчета оболелог од НС (41).

Последњих година рађене су студије праћења улоге CRP-а у другим болестима новорођене деце. Shang и сарадници проучавали су улогу CRP-а, IL-6 и TNF- α у развоју и прогнози лечења хипоксијско исхемијске енцефалопатије (НІЕ). Код пацијената са већим инфламаторним одговором примећена је озбиљна прогресија болести. Њихова студија указује да добијене високе вредности поменутих маркера инфламације указују на озбиљнију прогресију и лошију прогнозу НІЕ. НІЕ не само да индукују експресију цитокина у мозгу, већ и мењају периферни ниво цитокина, што доводи до погоршања стања у мозгу и другим органима (47, 48).

Зато CRP има своје место у дијагнози НС, али није поуздан као једини маркер (41, 49). Значајнију улогу има у праћењу тока болести, а посебно у доношењу одлуке о моменту прекидања иницијалне терапије. Ако вредности CRP-а остају нормале и након 24 сата, може се сматрати да је вероватноћа НС мала и терапију треба прекинути (7, 50).

Клинички и радиолошки знаци болести примећују се касно у великом проценту пацијената. Зато, идентификација раног биохемијског маркера представља кључни задатак будућих испитивања. Bersani и сарадници наводе да би такав маркер морао дати корисне у прецизне дијагностичке информације још у тренутку када изостају клинички и

радиолошки знаци. Исти аутори наводе да би поменути маркери били корисни у перинаталној медицини, морају се претходно добро изучити у педијатријској популацији, бити мерени широм света доступним китовима, правилно протумачени, посебно праћени код терминске и превремено рођене деце. Посебно је важно истражити и различите биолошке течности из којих се могу одређивати (крв, урин, цереброспинална течност, слива, млеко и плодова вода). Подразумева се да је неопходно да буде што мање инвазиван за новорођену децу (8).

Адреномодулин је вазодилататорни хипотензивни пептид који први пут изолован из хуманог феохормоцитома. Полуживот овог пептида у плазми је 22 часа, а највећим делом се елиминише преко плућа (8). Могућа улога је у кардиоваскуларној адаптацији после рођења, те је и описан као маркер срчаног попуштања (51). Осим тога, адреномодулин је изражен и у мозгу где показује неуропептидне карактеристике. Његове високе вредности указују на хипоксију. Поред тога, висока вредност указују на развој интравентрикуларне хеморагије (IVH) код новорођенчади са перинаталном асфиксијом. Клиничку примену нашао је у септичном шоку, када се бележи његов скок (52). Како је мали број студија одрађен, адреномодулин није поуздан као једини маркер инфекције (8, 53).

Прокалцитонин, пропептид калцитонина је реактант акутне фазе који се повећава за 4 часа, а пик достиже за 6- 8 часова након стимулације. У поређењу са CRP- ом, бележи брже пораст након стимулације и прецизнији је у дијагнози касне неонаталне сепсе (54). Високе вредности PCT-а забележене су код новорођенчади са сумљивом или доказаном сепсом, а физиолошки пораст PCT-а у прва два дана живота (55, 56). Versani и сарадници наводе да су његове вредности $>2,4 \text{ ng/mL}$ довољно прецизне за разликовање сепсе код новорођенчета. Како респираторни дистрес синдром као и хемодинамска нестабилност

такође утичу на вредности PCT-а, не може се самостално користити као поуздан маркер. У комбинацији са CRP-ом прецизно дефинише инфекцију новорођенчета, а сам се може користити као поуздан маркер успеха антимикуробне терапије (8, 56).

Рана сепса новорођенчета, значајан је узрок морталитета и морбидитета новорођене деце, посебно превремено рођене. Бројне студије показују значајније више вредности пресепсина код присутне инфекције. За разлику од других параметара, вредности пресепсина су више већ у првих 24 сата од почетка болести. Вредности више од 788 ng/l имају сензитивност од 93% и специфичност 100% (57).

Један од највећих изазова у лечењу касне неонаталне сепсе је постављање адекватне дијагнозе. Пресепсин представља нов и обећавајући маркер. Сензитивност од 67% и специфичност од 100% бележи на граничним вредностима за касну сепсу од 800,5 pg/mL (58). У поређењу са здравом децом, пресепсин има значајније више вредности код новорођенчади са касном сепсом, те се препоручује као рани дијагностички маркер (59).

Истраживања на новорођеној деци указују на непостојање корелације између вредности пресепсина и броја дана постанаталног живота. Такође није примећена разлика везана за гестациону старост. Већина променљивих које често утичу на вредности CRP-а и PCT-а, не утичу на вредност пресепсина. То указује да он може бити ефикаснији маркер инфекције новорођене деце (60).

2. ЦИЉ СТУДИЈЕ

2.1. Циљеви

1. Утврдити значај солубилног CD14 подтипа пресепсина као маркера инфламације код новорођене деце
2. Утврдити значај одређивања пресепсина у трахеалном аспирату код интубиране новорођенчади, као маркера системске инфекције неонатуса и локалне инфекције-пнеумоније
3. Утврдити *Cut- off* вредности пресепсина у трахеалном аспирату код неонаталне сепсе и неонаталне пнеумоније

2.2. Хипотезе

1. Постоји повезаност између анамнестичких података и настанка неонаталне инфекције
2. Постоји повезаност између клиничка процене и настанка неонаталне инфекције
3. Постоји пораст вредности пресепсина добијеног из плазме код новорођенчета у неонаталној сепси у првом дану обољевања

4. Постоји пораст вредности CRP и PCT добијеног из серума новорођенчета оболелог од неонаталне сепсе у другом дану
5. Постоји пораст вредности пресепсина добијеног из трахеалног аспирата код интубираног новорођенчета са неонаталном сепсом и новорођенчета са пнеумонијом
6. Постоји пад вредности пресепсина у испитиваним медијумима (плазма и трахеални аспират) са излечењем болести- пресепсин има већу осетљивост и специфичност у дијагностици сепса као нови биомаркер, и предиктор за прогнозу сепсе.
7. Постоји разлика у нивоу пресепсина добијеног из трахеалног аспирата у пнеумонијама изазваним Грам позитвним (Г+) и Грам негативним (Г-) бактеријама
8. Постоји корелацију клиничке процене (аускултаторни налаз) неонаталне пнеумоније и вредности пресепсина из трахеалног аспирата
9. Постоји корелација између радиолошке процене неонаталне пнеумоније и пресепсина добијеног из трахеалног аспирата

3.МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

А/ Врста студије

Ово је клиничко опсервациона, аналитичка студија по типу „случај контрола“. Биће спроведена проспективна студија у периоду 01.03.2015.год.- 01.03.2016.год.

Б/ Популација која се истражује

У истраживању су била укључена интубирана новорођена деца хоспитализована у ЈИИИИ Центра за неонатологију, Клинике за педијатрију, КЦ Крагујевац. То су хоспитализована

витално угрожена новорођена деца са територије централне и југо- западне Србије (из 11 породилица), са гестационом старошћу већом од 24 недеље.

Испитивање је трајало годину дана.

В/ Узорковање

Истраживање обухвата 60 новорођене деце, и састоји се из 2 фазе:

- I. фаза: испитивање утицаја пресепсина (из трахеалног аспирата) на настанак ране системске бактеријске инфекције новорођенчета
- II. фаза: испитивање утицаја пресепсина (из трахеалног аспирата) на настанак ране пнеумоније код новорођене деце

Индикације за механичку вентилацију су недостатак спонтаног дисања, Силверман скор > 5, радиографски знаци РДС > 3 степена, неправилно дисање са прогресивним падом базног екцеса (БЕ)- ацидоза, прогресивно продубљивање тахипнее, $pO_2 < 6,6$ kPa уз оксигенацију > O_2 од 60%, хипоксемија.

Из испитивања су била искључена превремено рођена деца гестационе старости мање од 24 недеља и новорођена деца која се у првом дану хоспитализације преведу у другу установу (нпр хируршка интервенција,...).

I фаза:

Пацијенти су подељени у 2 основне групе:

1. Циљна група: интубирана новорођена деца са позитивном анамнезом (даље у тексту) и клиничким знацима неонаталне инфекције
2. Контролна група: интубирана новорођена деца без позитивне анамнезе (даље у тексту) и без клиничких знакова неонаталне инфекције. Њима ће се трахеални аспират и крв узимати у првом дану, при пријему.

Анамнестички подаци и клинички знаци неонаталне инфекције биће описани у тексту који следи.

Клинички знаци неонаталне сепсе који су праћени код деце су:

I) **Знаци могуће неонаталне сепсе (НС)** (неспецифични знаци у одсуству елемената SIRS-а):

Најчешћи знаци:

Респираторни дистрес (RD) или респираторни дистрес синдром (RDS)/ Апнеа

Повећане потребе за артефицијелном дисајном потпором и /или повећаним FiO₂

Компромитована микроциркулација (успорено капиларно пуњење >3 сек)

Анорексија/ повраћање/ интолеранција ентералног уноса

Дистензија абдомена

Необјашњива жутица (коњугована или некоњугована)

Поремећаји свести/ конвулзије

Склерем

II) **Знаци вероватне НС** (знаци системског инфламаторног одговора). SIRS подразумева најмање 2 од следећих критеријума од којих један мора бити фебрилност или одступање броја леукоцита (Табела бр 1).

Табела бр 1. Критеријуми за дијагнозу SIRS-а

Поремећај	Узраст новорођенчета (дана)	
	0-7	8-28
Фебрилност	> 38,0 ⁰ C (> 38,5 ⁰ C)*	
Хипотермија	<36,0 ⁰ C	
Тахикардија или брадикардија	> 180/мин** < 100/мин**	

Тахипнеја (респ/мин)	> 40	> 50
Систолна ТА (mmHg/kPa)	< 65/8,7	< 75/10,0
Леукоцитоза (Le x 10 ⁹ /л)	> 30,0	> 19,5
Леукопенија (Le x 10 ⁹ /л)	< 7,5	< 5,0

ТА : артеријски крвни притисак
 *ректална температура, поузданији критеријум је фебрилност >38,5⁰С
 **континуирано се одржавају > 30 мин у одсуству урођене срчане мане, болних стимулуса или примене бета-блокатора

Табела је преузета из Националног водича за основно и специјализовано збрињавање новорођенчета (Николић Т., Јанковић Б. Перинаталне инфекције. У: Јанковић Б, editor: Национални водич за основно и специјализовано збрињавање новорођенчета, Београд: Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чулић“, 2010: 185-92).

Анамнестички подаци који су праћени као фактори од стране мајке:

- Хориоамнионитис
- Превремена руптура плодових овојака (значајан је број сати) >18 сати
- Превремени порођај
- Повишена телесна температура мајке у последњем триместру
- Инфекција мајке у последњем триместру

II фаза:

Постављени су и посебни критеријуми за новорођенчад из испитиване групе:

1. Клинички знаци представљени као: респираторни дистрес различитог степена, тахипнеја, присуство секрета, кашаљ, апнеја и летаргија
2. Радиографски знаци: ретикулогрануларно-нодуларни инфилтрати и билатерално тракасте или мрљасе сенке над плућима
3. Позитивна култура трахеалног аспирата

Контролна група се састојала од новорођенчади без сумње на пнеумонију и без других знакова инфекције. У ову групу укључили смо пацијенте са: респираторним дистрес синдромом, транзиторном тахипнеом, синдромом аспирације меконијума, плућном хеморагијом, конгестивном срчаном инсуфицијенцијом, вредностима маркера инфламације у референтном опсегу и негативном културом трахеалног аспирата.

Г/ Варијабле које се мере у студији

Све анализе (из периферне крви и трахеалног аспирата) рађене су у истом дану (између првог и другог дана хоспитализације).

1. За одређивање вредности серумских маркера пунктирали смо периферну вену (2ml) крви.
2. Биохемијске маркере инфламације анализирали смо у Центру за лабораторијску дијагностику КЦ Крагујевац, следећим методама:
 1. CRP имуно- турбидиметријским тестом на апарату AU 400,
 2. PCT електро- хеми- луминесцентни имуно тест на апарату COBAS e 411,

3. пресепсин (из плазме и трахеалног аспирата) хеми-луминесцентни ензимски имуно тест на PATHFAST (*Mitsubishi Medience*).

3. Трахеални аспират смо добијати лаважом у стерилним условима са 2 ml 0,9%NaCl у време уобичајене тоалете тубуса помоћу *Mucus suction set* (FG 6 или 8 зависно од величине тубуса) фирме *Protos medical*. Добијени садржај, у стерилним условима се пресипао у епрувету за биохемијске анализе, у којој се, пре одређивања пресепсина, центрифугирати у апарату ROTOFIX 32 А, 3000 обртаја, 15 минута Централне лабораторије КЦ Крагујевац. Из добијеног узорка су одређиване вредности пресепсина.

4. Трахеални аспират за микробиолошки преглед узиман је истог дана, при наредној тоалети, такође у стерилним условима, истим поменутих сетом без додавања 0,9%NaCl. Садржај се носио у микробиолошку лабораторију КЦ Крагујевац на даљу анализу.

5. Остале анализе:

- I. Број леукоцита и тромбоцита одређивали смо из капиларне крви, апаратом *NIHON KOHDEN Celltae E*
- II. Гасне анализе одређивали смо из капиларне крви апаратом *GEM Premier 3000*
- III. Однос незрелих (несегментованих) и зрелих неутрофила (I/T ratio) одређивали смо из размаза периферне крви, обојене Giemsa и *May Gryenwald* бојама, под микроскопом *NIHON ECLIPSE E 400*

- IV. Рендген граfiја плућа или *Babygram* (према индикацијама) рађену су апаратом *Mobileart Eco, Schimadzu*
- V. При пријему ће је узимана крв за хемокултуру која је анализирана у Микробиолошкој лабораторији КЦ Крагујевац

Посебно су обрађене и демографске карактеристике, које могу бити повезане са неонаталном сепсом, како би се што боље сагледали узроци болести.

Демографске карактеристике значајне за истраживање су:

- Порођајна телесна маса (ПТМ) у грамима
- Гестациона старост (ГС) у недељама
- Пол (мушки или женски)
- Начин порођаја (царски рез, вакум екстракција, форцепс екстракција или вагинални порођај)
- Дужина транспорта (у сатима)
- Начин транспорта (санитет, од себе, ка себи)

Статистичка обрада података

Подаци о основним карактеристикама испитаника биће обрађивани и приказани методама дескриптивне статистике. Користиће се средње вредности $\pm SD$ за континуалне варијабле и учесталост (проценти) за категоријске варијабле. Од параметријских тестова користиће

се *Student's t* тест за утврђивање разлика у просечној вредности за континуалне варијабле под условом да је нормална расподела вредности.

Услов за примену *t*-теста је претпоставка да су, у погледу облика, ова два подскупа нормално распоређена са аритметичким срединама и са варијансама.

Тестирајње претпоставке о нормалности независно променљивих обављено је помоћу *Shapiro-Wilkovog* теста у SPSS-а, пошто је величина оба узорка мања од 50 елементарних јединица- новорођене деце.

Његова непараметријска алтернатива *Mann-Whitney* тест, коришћен је када подаци не прате нормалну дистрибуцију. Разлике између група у учесталости појединих категорија утврђиваће се χ^2 -квадрат тестом односно *Fisher*-овим тестом стварне вероватноће ако је учесталост мала.

У делу дисертације, мерења утицаја независно променљивих на зависно променљиве, анализа се обављала у два правца. Први правац је мерење интеракцијског односа између променљивих помоћу коефицијента просте линеарне корелације и вишедимензионалног коефицијента корелације, а други правац анализе је мерење утицаја независно променљивих на зависно променљиву помоћу дводимензионалног регресионог модела (61).

Утврђивање могућности коришћења вредности пресепсина из плазме и трахеалног аспирата као маркера неонаталне инфекције испитаће се одређивањем површине испод криве - AUROC (*Area Under Receive Operating Characteristic Curve*) и утврдити да ли се она статистички значајно разликује од референтна вредност. За оптимални ниво одлучивања (*cut off*) узима се она вредност обележја за коју је производ сензитивности и специфичности максималан.

Потенцијални предиктори настанка неонаталних инфекција утврђиваће се бинарном логистичком регресијом, а јачина повезаности изражавати вредностима сировог и коригованог односа могућности (*Odds ratio*) са припадајућим интервалом поверења од 95%. По идентификацији појединачних фактора ризика, биће испитана и њихова интеракција. Сви подаци ће бити анализирани коришћењем статистичког програма SPSS верзија 20.

Снага студије и величина узорка

Прва фаза:

Величина групе за ову студију ће се одређивати на основу жељене снаге студије од 80%, вероватноће грешке првог типа од 5%, и разлике у учесталости (код категоријских варијабли) или средњој вредности (код континуалних варијабли) фактора ризика. У предходним испитивањима показана је значајна разлика у измереним вредностима пресепсина у плазми код пацијената без присутне инфекције ($294,2 \pm 121,4$) и пацијената са присутном сепсом ($817,9 \pm 572,7$) (62). На основу претходно наведене очекиване снаге студије и вероватноће грешке првог типа, биће потребно најмање 9 пацијената у експерименталној и 18 пацијената у контролној групи (G^* power ver. 3.1.5, двосмерни Wilcoxon Mann Witney тест, однос између испитиваних група 1:2).

Друга фаза:

Величина узорка за нашу студију израчуната је помоћу G-power софтвера. Са величином ефекта од 0,849, израчунато на основу разлика у нивоу пресепсина од претходних испитивања (однос 43/39 пацијената) (38) и са вредношћу α грешке од 0,05 и снагом студије од 0,9, израчунали смо да нам је потребно најмање 25 пацијената у експерименталној групи и најмање 25 пацијената у контролној групи.

4. РЕЗУЛТАТИ РАДА

ПРВА ФАЗА ИСПИТИВАЊА

4.1. Карактеристике испитаника

4.1.1. Демографске карактеристике пацијената

У овој клиничко опсервационој, аналитичкој студији по типу „случај контрола“ учествовало је 60-оро новорођене деце распоређене у 2 групе.

Прву групу чине 11 новорођена деца која су по наведеном критеријуму издвојена као испитивана група, а другу групу чине новорођена деца која су издвојена као контролна група (49).

Истраживање је обухватило укупно 37 мушке и 23 женске новорођене деце.

У испитиваној групи било је мушке новорођенчади 45,5%, док је у контролној било 65,3%. Распоред новорођене деце према полу у испитиваној и контролној групи приказан је у табели број 1.

Табела 1: Распоред новорођене деце према полу у испитиваној и контролној групи

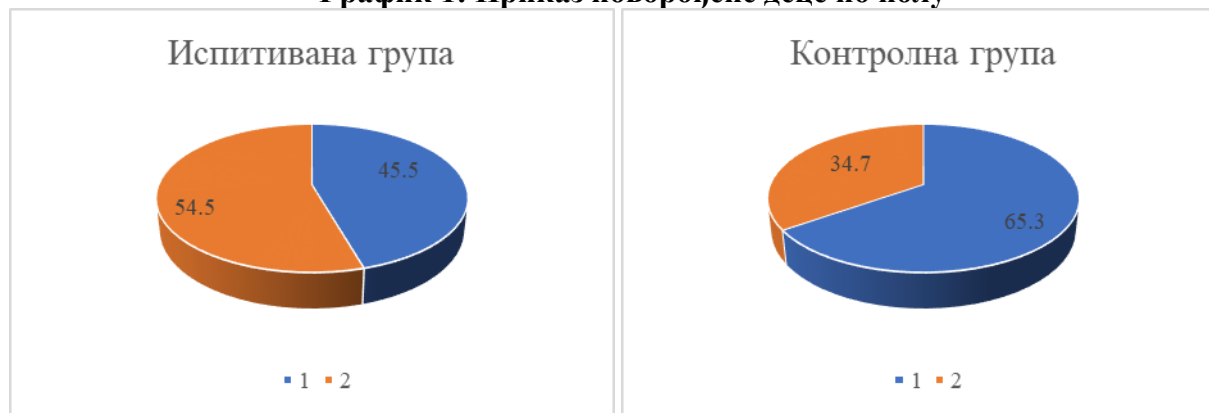
узорци*	пол	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	мушко	5	45,5	45,5
	женско	6	54,5	100,0
	укупно	11	100,0	
II	мушко	32	65,3	65,3
	женско	17	34,7	100,0

	укупно	49	100,0	
--	--------	----	-------	--

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0

Структура новорођене деце по полу у обе групе приказана је и графички.

График 1: Приказ новорођене деце по полу



1..мушки;2..женски пол

У испитиваном узорку новорођене деце вредности гестационе старости крећу се у интервалу од 27 до 39 (Табела 2). Просечна вредност гестационе старости у истом узорку, мерена преко аритметичке средине \bar{x} је 32,9091, а просечно одступање опсервација од аритметичке средине, односно стандардна девијација s је 4,1582 недеља. У контролном узорку просечна вредност гестационе старости је нешто виша и износи 34,3061 недеља, а просечно одступање опсервација је 4,3407.

У испитиваној групи пацијената више је било деце рођене у термину 63,6%, док је у контролној групи било 49%, што је такође приказано у табели број 2.

Табела 2: Распоред фреквенције новорођене деце према гестационој старости у испитиваној и контролној групи

узорци*	гестациона старост (недеље)	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	≤34	2	18,2	18,2
	35-37	2	18,2	36,4

II	≥38	7	63,6	100,0
	укупно	11	100,0	
	≤34	14	28,6	28,6
	35-37	11	22,4	51,0
	≥38	24	49,0	100,0
	укупно	49	100,0	

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни*

Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

Ни једно дете није рођено са порођајном телесном масом (ПТМ) мањом од 1000г у испитиваној групи, док је у контролој било 3 деце (6,1%). Са ПТМ између 1000 и 2500г у испитиваној групи рођено је 72,7% деце, а у контролној 59,2%. ПТМ већу од 2500г у испитиваном узорку имало је 27,3% деце, док је у контролном имало 40,8% деце. Подаци су приказани у табели број 3.

Табела 3: Распоред фреквенције новорођене деце према порођајној телесној маси (ПТМ)

узорци*	ПТМ (г)	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	≤1000	0	0	0
	1000-1500	4	36,4	36,4
	1500-2500	4	36,4	72,7
	>2500	3	27,3	100,0
	укупно	11	100,0	
II	≤1000	3	6,1	6,1
	1000-1500	8	16,3	22,4
	150-2500	18	36,7	59,2
	>2500	20	40,8	100,0
	укупно	49	100,0	

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни*

Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

Табела број 4 приказује детаљнији распоред фреквенције деце према интервалним класама порођајне телесне масе. И у узорку болесне деце и у контролном узорку фреквенције су приближно равномерно распоређене. Просечна порођајна телесна маса код узорка болесне деце је 2080 гр, просечно одступање опсервација од аритметичке средине s је изузетно

високо и износи 858,71998г. У контролном узорку просечна порођајна телесна маса \bar{x} је нешто виша и износи 2454гр, а просечно одступање опсервација је такође изузетно високо (1050,57774гр).

Табела 4: Распоред фреквенције деце према интервалним класама порођајне телесне масе

узорци*	Интервалне класе (ПТМ)	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	$\leq 1370,00$	3	27,3	27,3
	1371,00 - 1975,00	3	27,3	54,5
	1976,00 - 2465,00	1	9,1	63,6
	2466,00 - 3325,00	3	27,3	90,9
	$\geq 3326,00$	1	9,1	100,0
	укупно	11	100,0	
II	$\leq 1370,00$	9	18,4	18,4
	1371,00 - 1975,00	9	18,4	36,7
	1976,00 - 2465,00	11	22,4	59,2
	2466,00 - 3325,00	9	18,4	77,6
	$\geq 3326,00$	11	22,4	100,0
	укупно	49	100,0	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

У табели број 5 приказан је распоред фреквенције новорођене деце према вредности апгар сора (АС). Просечна вредност АС у испитиваном узорку новорођенчади је $\bar{x}=6,4545$, а просечно одступање опсервација од аритметичке средине s је 2,58316. У контролном узорку просечна вредност АС је 5,7551, а дисперзија мерена преко просечног одступања је $s=2,7953$.

Табела 5: Распоред новорођене деце према вредности апгар сора

узорци*	Вредност апгар сора	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	0-4	3	27,3	27,3
	5-7	2	18,2	45,5
	8-10	6	54,5	100,0
	укупно	11	100,0	
II	0-4	13	26,5	26,5
	1,00	21	42,9	69,4

	2,00 укупно	15 49	30,6 100,0	100,0
--	----------------	----------	---------------	-------

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0*

4.1.2 Карактеристике везане за порођај

Анализирајући карактеристике везане за врсту порођаја, примећено је да је око ½ деце у испитиваој групи рођено царским резом и исто толико природним путем (45,5%: 54,5%).

Скоро два пута више (65,3%) је било царских резова у односу на природни порођај (34,7%), у контролној групи пацијената. Подаци су приказани у табели број 6.

Табела 6: Распоред броја порођаја према врсти порођаја и њихова структура у %

узорци*	врста порођаја	број порођаја	структура у %	кумулатив у %
I	царски рез	5	45,5	45,5
	природни	6	54,5	100,0
	укупно	11	100,0	
II	царски рез	32	65,3	65,3
	природни	17	34,7	100,0
	укупно	49	100,0	

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0*

Табела број 7 приказује распоред броја порођаја према врсти плодове воде. Око 2/3 трудноћа и у испитиваној (72,7%) и у контролној (71,4%) групи завршено је са бистром плодом водом. Млечну, замућену, зелену или меконијалну плодову воду забележили смо у осталим трудноћама.

Табела 7: Распоред броја порођаја према врсти плодове воде

узорци*	Врста плодове воде	број порођаја	структура у %	кумулатив у %
I	остало**	3	27,3	27,3
	бистра	8	72,7	100,0
	укупно	11	100,0	
II	остало	14	28,6	28,6

	бистра	35	71,4	100,0
	укупно	49	100,0	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни

** остало- млечна, замућена, зелена или меконцијална плодова вода

Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

4.2. Карактеристике везане за инфекцију

4.2.1. Фактори ризика везани за мајку

Анализирањем фактора ризика за неонаталну инфекцију везаних за мајку уочено је у контролној групи, да су инфекција мајке, фебрилност у последњем триместру и превремено прснуће плодоваих овојака забележено у свега 2% испитаника. У испитиваној групи забележени су инфекција мајке (36,4%) и превремено прснуће плодоваих овојака (36,4%), док је фебрилност мајке у последњем триместру забележена у 1/6 пацијената (18,2%). Позитивни брисеви мајке на бактеријске инфекције, у контролној групи, забележени су у 4,1% трудноћа. Док у испитиваном узорку нису забележени ни у једној трудноћи. Расподела фреквенције фактора ризика везаних за мајку приказана је у табели 8.

Табела 8: Расподела фреквенције фактора ризика везаних за мајку

инфекција мајке					Фебрилност у III/3				
узорци*		број мајки	структура у %	кумулатив у %	узорци*		број мајки	структура у %	кумулатив у %
I	да	4	36,4	36,4	I	да	2	18,2	18,2
	не	7	63,6	100,0		не	9	81,8	100,0
	Σ	11	100,0			Σ	11	100,0	
II	да	1	2,0	2,0	II	да	1	2,0	2,0
	не	48	98,0	100,0		не	48	98,0	100,0
	Σ	49	100,0			Σ	49	100,0	18,2
позитивни брисеви					RVP>18 сати				
узорци*		број мајки	структура у %	кумулатив у %	узорци*		број мајки	структура у %	кумулатив у %
I	да	0	0		I	да	4	36,4	36,4
	не	100	100,0			не	7	63,6	100,0

II	Σ	11	100	II	Σ	11	100,0	2,0 100,0
	да	2	4,1		да	1	2,0	
	не	47	95,9		не	48	98,0	
	Σ	49	100		Σ	49	100,0	

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Σ укупан број; RVP- превремено прснуће плодових овојака
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0*

4.2.2. Фактори ризика везани за новорођенче

У испитиваном узорку транспортовано је санитетом 6 новорођенчади или 54,5%, а њих 5 (45,5%) рођено је у КЦ Крагујевац, било да мајке живе на територији Крагујевца или су новорођена деца транспортована *in utero*. Слични су подаци и у контролном узорку, односно у контролном узорку су 23 или 46,9% транспонтоване санитетом, а 26 (53,1%) њих није транспортовано. Сви подаци приказани су табелом број 9.

Табела 9: Транспорт санитетом

узорци*	транспорт	број	структура у %	кумулатив у %
I	да	6	54,5	54,5
	не	5	45,5	100,0
	укупно	11	100,0	
II	да	23	46,9	46,9
	не	26	53,1	100,0
	укупно	49	100,0	

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0*

4.2.3. Карактеристике везане за маркере инфламације

У табели број 10 приказан је распоред новорођене деце према вредностима леукоцита. У узорку болесне деце просечна вредност леукоцита је $\bar{x} = 23,1273$, а просечно одступање је

9,67234. Аритметичка средина вредности леукоцита у контролном узорку је знатно нижа од претходне и износи 16,7265, а средње одступање је знатно више од претходног и износи 13,88665.

Табела 10: Распоред новорођене деце према вредности леукоцита

узорци*	вредности леукоцита у $\times 10^9/L$	број	структура у %	кумулятив у %
I	$\leq 10,65$	1	9,1	9,1
	12,96 - 15,90	2	18,2	27,3
	15,91 - 22,80	2	18,2	45,5
	$\geq 22,81$	6	54,5	100,0
	укупно	11	100,0	
II	$\leq 10,65$	11	22,4	22,4
	10,66 - 12,95	12	24,5	46,9
	12,96 - 15,90	10	20,4	67,3
	15,91 - 22,80	10	20,4	87,8
	$\geq 22,81$	6	12,2	100,0
	укупно	49	100,0	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0

У табели број 11 приказан је распоред новорођене деце према вредности неутрофила. У испитиваном узорку аритметичка средина неутрофила је $\bar{x} = 61,5273\%$, а стандардна девијација је $s = 9,67234\%$. Средња вредност, мерена преко аритметичке средине, неутрофила у контролном узорку, је нижа од вредности претходног узорка, и износи 56,5347%, а средње одступање је нешто више од претходног и износи 13,59917%.

Табела 11: Распоред новорођене деце према вредностима неутрофила

узорци*	вредност неутрофила у %	број деце	структура у %	кумулятив у %
I	$\leq 48,05$	1	9,1	9,1
	48,06 - 55,85	2	18,2	27,3
	55,86 - 60,00	1	9,1	36,4
	60,01 - 69,00	6	54,5	90,9

II	≥69,01	1	9,1	100,0
	укупно	11	100,0	
	≤48,05	11	22,4	22,4
	48,06 - 55,85	10	20,4	42,9
	55,86 - 60,00	12	24,5	67,3
	60,01 - 69,00	5	10,2	77,6
	≥69,01	11	22,4	100,0
	укупно	49	100,00	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0

У табели број 12 приказан је распоред новорођене деце према вредностима Ц реактивног протеина (CRP). У испитиваном узорку просечна вредност CRP-а је $\bar{x}=3,45$ mg/l, а стандардна девијација је $s=1,4445$ mg/l. Просечна вредност CRP -а у контролном узорку је знатно нижа од вредности претходног узорка и износи 2,9 mg/l, а средње одступање је 1,418 mg/l.

Вредности CRP -а више од 12,551 mg/l, забележене су у 1/3 пацијената у испитиваној групи и у 16,3% деце у контролној групи.

Табела 12: Распоред новорођене деце према вредностима Ц реактивног протеина (CRP)

узорци*	вредности Ц реактивног протеина mg/l	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	≤ 0,850	1	9,1	9,1
	0,851 - 1,900	2	18,2	27,3
	1,901 - 4,100	3	27,3	54,5
	4,101 - 12,550	1	9,1	63,6
	≥12,551	4	36,4	100,0
	укупно	11	100,0	
II	≤ 0,850	11	22,4	22,4
	0,851 - 1,900	10	20,4	42,9
	1,901 - 4,100	9	18,4	61,2
	4,101 - 12,550	11	22,4	83,7
	≥12,551	8	16,3	100,0
	укупно	49	100,0	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0

У табели број 13 приказан је распоред новорођене деце према интервалним класама прокалцитонина (PCT). У испитиваном узорку вредности PCT су се кретале од минималне 0,719ng/l до максималних 100 ng/l. Просечна вредност PCT-а је $\bar{x} = 25,111 \text{ ng/l}$, а стандардна девијација је $s = 36,968 \text{ ng/l}$. Просечна вредност PCT -а у контролном узорку је знатно нижа од вредности претходног узорка, и износи 9,721ng/l, а средње одступање је $s = 11,964 \text{ ng/l}$. Најнижа вредност PCT-а у контролној групи испитаника била је 0,175 ng/l, а највиша 53,70 ng/l. У испитиваној групи 2/3 пацијената (72,8%) имало је вредности PCT-а више од 2 ng/l, а њих 54,6% и више од 10 ng/l. Анализом података из контролне групе забележен је такође висок проценат деце са вредностима PCT-а вишим од 2 ng/l, њих 75,5%, али је скоро 2 пута мање деце имало вредности PCT-а више од 10 ng/l, њих 26,5%. Сви подаци су приказани табелом 13.

Табела 13: Распоред новорођене деце према вредностима прокалцитонина (PCT)

узорци*	вредности прокалцитонина ng/l	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	$\leq 2,0$	3	27,2	27,2
	2,0 - 10,0	2	18,2	45,4
	>10,0	6	54,6	100,0
	укупно	11	100,0	
II	$\leq 2,0$	12	24,5	24,5
	2,0 - 10,0	24	49,0	73,5
	>10,0	13	26,5	100,0
	укупно	49	100,0	

**I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0*

У табели број 14 приказан је распоред фреквенције новорођене деце према интервалним класама пресепсина добијеног из крвне плазме. Просечна вредност тако добијеног

пресепсина, мерена преко аритметичке средине \bar{x} , код испитиваног узорка је 828,5455pg/ml, просечно одступање опсервација од аритметичке средине s је 348,61823pg/ml. У контролном узорку просечна вредност је нешто нижа од просечне вредности у испитиваном узорку и износи 681,4945 pg/ml, а просечно одступање опсервација је нешто више и износи 460,61152 pg/ml.

У 63,7% пацијената у испитиваној групи, вредности пресепсина из плазме биле су изнад 715,01 pg/ml, док је тако високе вредности у контролној групи имало 34,7% новорођене деце.

Табела 14: Распоред новорођене деце према вредностима пресепсина (плазма)

узорци*	Вредности пресепсина pg/ml	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	≤414,00	1	9,1	9,1
	414,01 - 557,00	2	18,2	27,3
	557,01 - 715,00	1	9,1	36,4
	715,01 - 921,50	4	36,4	72,7
	≥921,51	3	27,3	100,0
	укупно	11	100,0	
II	≤414,00	12	24,5	24,5
	414,01 - 557,00	9	18,4	42,9
	557,01 - 715,00	11	22,4	65,3
	715,01 - 921,50	8	16,3	81,6
	≥921,51	9	18,4	100,0
	укупно	49	100,0	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

У табели број 15 приказан је распоред фреквенције новорођене деце према интервалним класама пресепсина у трахеалном аспирату. Просечна вредност пресепсина у испитиваном узорку је 695,1pg/ml, а просечно одступање опсервација од аритметичке средине s је 652,1pg/ml. У контролном узорку просечна вредност је нешто нижа од просечне вредности

у испитиваном узорку и износи 429,3939pg/ml, а просечно одступање опсервација је нешто ниже од претходног узорка и износи 387,284pg/ml.

У 54,5% новорођене деце у испитиваном узорку вредности пресепсина добијене из трахеалног аспирата биле су више од 410,01pg/ml, од чега је њих 36,4% имало вредности више од 802,01pg/ml. У контролној групи су добијене ниже вредности: више од 410,01pg/ml код 36,7% новорођенчади, а више од 802,01pg/ml код 16,3% новорођенчади.

Сви подаци приказани су табелом број 15.

Табела 15: Распоред новорођене деце према вредности пресепсина у трахеалном аспирату

узорци*	вредности пресепсина у pg/ml	број деце	структура у %	кумулатив у %
I	≤ 151,50	3	27,3	27,3
	151,51 - 217,50	2	18,2	45,5
	410,01 - 802,00	2	18,2	63,6
	≥802,01	4	36,4	100,0
	укупно	11	100,0	
II	≤ 151,50	9	18,4	18,4
	151,51 - 217,50	10	20,4	38,8
	217,51 - 410,00	12	24,5	63,3
	410,01 - 802,00	10	20,4	83,7
	≥802,01	8	16,3	100,0
	укупно	49	100,0	

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

4.2.4. Карактеристике везане за лечење

Табела 20 приказује расподелу новорођене деце и процентуалну структуру према учињеним рендген грађијама плућа и налазима. Код сваког од 11- оро деце из испитиване групе нађен је позитиван налаз, док је код 2- оје деце у контролној групи налаз био уредан. Око 2/3 пацијената (67,3%) у контролној групи имало је радиолошке знаке репираторног дистрес синдрома (РДС), а у испитиваној њих 54,5%. У испитиваној групи 45,5% новорођенчади је имало радиолошке знаке пнеумоније, док је у контролној групи имало 30,6% деце. Само је код 1- ог детета (2%) забележен синдром аспирације меконијума (САМ) у контролној групи. У испитиваној групи није било деце са тим синдромом.

Табела 20: Расподела фреквенције (броја новорођенчади) и процентуална структура према рендген налазима

Рендген налаз					РДС					
узорак		број	структура у %	кумулатив у %	узорак		број	структура у %	кумулатив у %	
I*	да	11	100,0	100,0	I*	да	6	54,5	54,5	
	не	0	0			не	5	45,5		100,0
	Σ	11	11			Σ	11	100,0		
II	да	47	95,9	95,9	II	да	33	67,3	67,3	
	не	2	4,1			не	16	32,7		100,0
	Σ	49	100,0			Σ	49	100,0		
Пнеумонија					САМ					
узорак		број	структура у %	кумулатив у %	узорак		број	структура у %	кумулатив у %	
I*	да	5	45,5	45,5	I*	да	11	100,0	100,0	
	не	6	54,5			не	0	0,00		
	Σ	11	100,0			Σ	11	100,0		
II	да	15	30,6	30,6	II	да	1	2,0	2,0	
	не	34	69,4			не	48	98,0		100,0
	Σ	49	100,0			Σ	49	100,0		

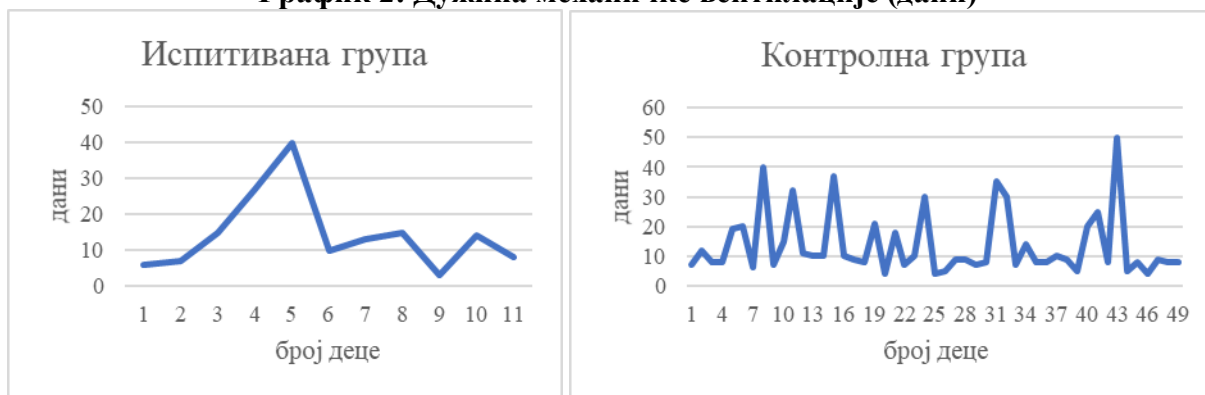
*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Σ- укупно

Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0

Лечење механичком вентилацијом обављано је, у испитиваном узорку од 3 до 40 дана, а у контролном од 4 до 50 дана. Просечна вредност дужине примене механичке вентилације

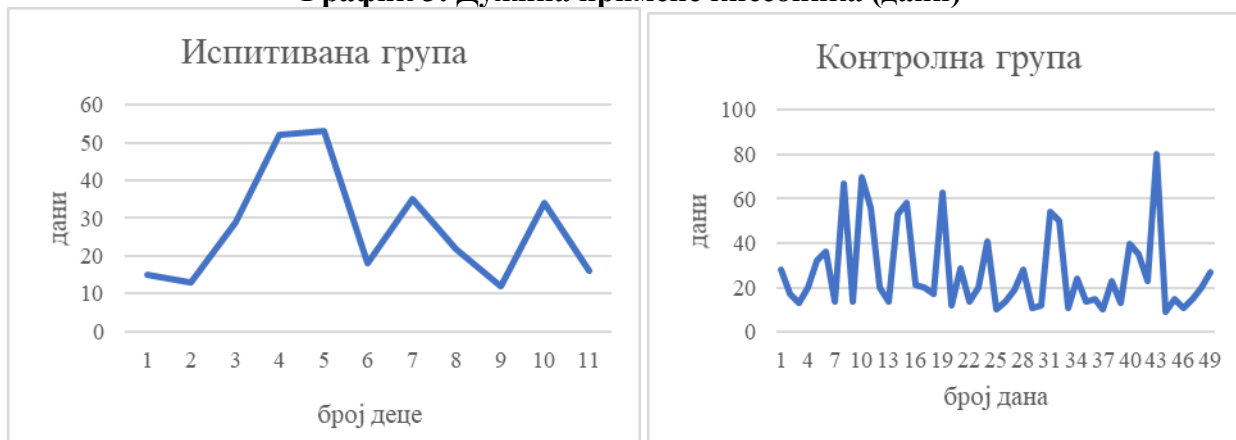
у испитиваном узорку је 14,3636 дана, а стандардна девијација 10,64211 дана. Аритметичка средина механичке вентилације у контролном узорку је 13,5102 дана, а стандардна девијација је 10,6656 дана. Резултати су приказани графички (график 2).

График 2: Дужина механичке вентилације (дани)



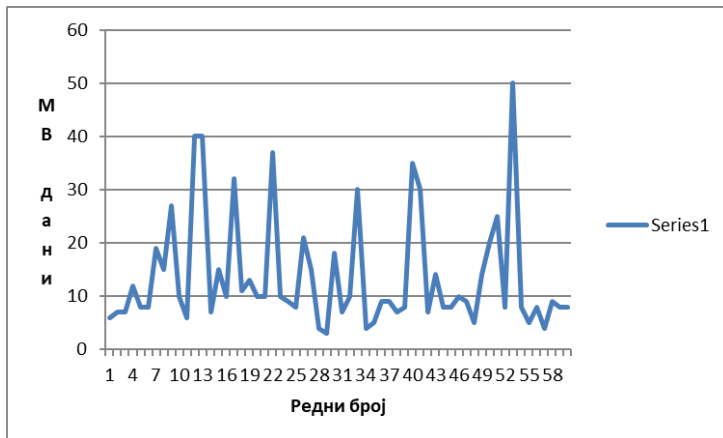
Потреба за додатним **кисеоником**, у испитиваном узорку била је од 12 до 53 дана, а у контролном од 9 до 80 дана. Просечна вредност третмана кисеоником износи 27,1818 дана, а стандардна девијација је 14,86485 дана. Просечна вредност третмана кисеоником у контролном узорку је приближно једнака третману у испитиваном узорку и износи 27,1837 дана, а стандардна девијација је 18,4692 дана. Подаци су приказани графиком 3.

График 3: Дужина примене кисеоника (дани)



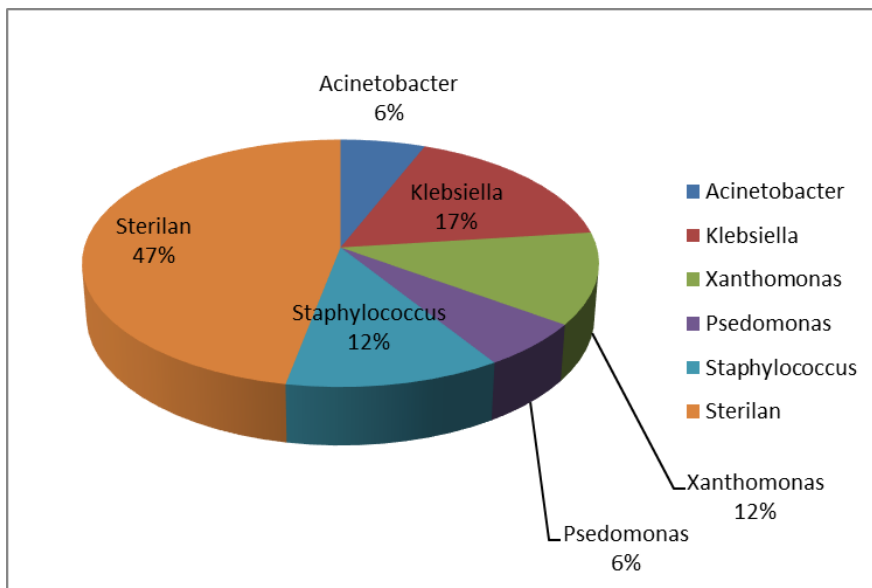
Просечна дужина на механичкој вентилацији је износила 13 дана.

График 4: Дужина механичке вентилације (дани)



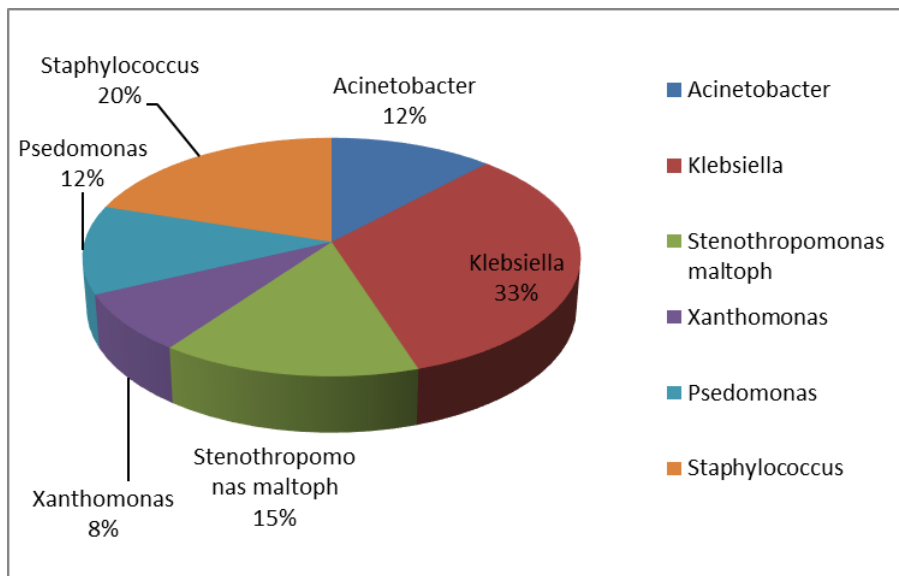
На дан узорковања пресепсина у трахеалном аспирату је доминирала Г- флора. У скоро $\frac{1}{2}$ пацијената (у обе групе) није изолована ни једна бактерија. Подаци су приказани графиконом 5.

График 5: Трахеални аспират (на дан узорковања пресепсина)



Након завршене механичке вентилације, из узорка тубуса урађена бактериологија указује на доминацију Г- бактерија (највише Klebsiella 33%). Овај и остали подаци дати су графиконом 6.

График 6: Брис врха тубуса са луменске стране



4.3. Тестирање значајности

4.3.1. Тестирање претпоставке о хомогености популације помоћу χ^2 –тест

4.3.1.1. χ^2 - тест: пол новорођене деце

Како је χ^2 променљива мања од теоријске вредности, $\chi^2=1,498 < 3,841459$, и значајност p веће од ризика грешке α , $p(\chi^2)=0,221 > \alpha=0,05$, то се прихвата нулта претпоставка да нема статистички значајне разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа и да је популација хомогена у погледу посматране карактеристике- врста пол новорођене деце.

Табела 21: Контигенције променљиве пол новорођенчета

пол	број деце КУ	број деце ИУ	укупно
	I	II	
мушко	32	5	17
женско	17	6	43
укупно	49	11	60

ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак

4.3.1.2. χ^2 - тест: врста порођаја

Пошто је χ^2 променљива мања од теоријске вредности, $\chi^2=1,498 < 3,841459$, и значајност p веће од ризика грешке α , $p(\chi^2) = 0,221 > \alpha = 0,05$, то се прихвата нулта претпоставка да нема разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа и да је популација хомогена у погледу посматране карактеристике.

Табела 22: Контигенције променљиве врста порођаја

врста порођаја	број деце КУ	број деце ИУ	укупно
	I	II	
царски рез	32	5	17
природни	17	6	43
укупно	49	11	60

ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак

4.3.1.3. χ^2 - тест: врста плодове воде

Као и код претходне две променљиве, код променљиве врста плодове воде емпиријска вредност χ^2 променљиве је мања од теоријске, $\chi^2=0,007<3,841459$ и значајност теста је већа од α , $p(\chi^2)=0,931>\alpha=0,05$, па се прихвата нулта претпоставка да нема статистички значајне разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа и да је популација хомогена у погледу посматране карактеристике- врста плодове воде.

Табела 23: Контингенције променљиве врста плодове воде

врста плодове воде	број деце КУ	број деце ИУ	укупно
	I	II	
остало	14	3	17
бистра	35	8	43
укупно	49	11	60

*ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак
остало- млечна, замућена, зелена или меконијална плодова вода*

4.3.1.4. χ^2 - тест: фактори ризика везани за мајку

Статистичка значајност фактора ризика везаних за мајку испитивана је χ^2 тестом.

Позитивни брисеви мајке нису показали статистичку значајност за инфекцију новорођенчета. Вредности χ^2 теста су мање од теоријске $\chi^2_3=0,464<3,841459$ и значајност теста је већа од α , $p(\chi^2_1)=0,496>\alpha=0,05$, па се прихвата нулта претпоставка да нема статистички значајне разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа и да је популација хомогена у погледу посматране карактеристике.

Виоко статистички значајан утицај показале су- **инфекција мајке у последњем триместру и превремено прснуће плодових овојака (RVP> 18 сати)**. Вредности

χ^2 теста су више од теоријске, $\chi_1^2=13,854>3,841459$ и $\chi_4^2 =13,854>3,841459$. Значајност теста је значајно нижа од α , $p(\chi_1^2)=0,000<\alpha=0,01$ и $p(\chi_4^2)=0,000<\alpha=0,01$ па се прихвата алтернативна претпоставка да има високо статистички значајне разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа и да је популација хетерогена у погледу посматраних карактеристика.

Фебрилност мајке, такође је показала да има значајан утицај на инфекцију новорођенчета.

Вредности χ^2 теста, су више од теоријске, $\chi_2^2=4,927>3,841459$ и значајност теста је нижа од $p(\chi_2^2)=0,000<\alpha=0,05$, па се прихвата алтернативна претпоставка да има значајне разлике у вредности опсервација у ова два подскупа и да је популација хетерогена у погледу посматране карактеристике.

Резултати тестова и значајности приказане су табелом 24.

Табела 24: Контингенције променљивих : фактори ризика везани за мајку

променљива	I (n=11)	II (n=49)	Вредност теста и значајност нулте хипотезе
инфекција мајке III/3 (да/не)	4 / 7	1 / 48	$\chi_1^2 = 13.854$ $p = 0.000$
фебрилност мајке (да/не)	2 / 9	1 / 48	$\chi_2^2 = 4.927$ $p = 0.026$
позитивни брисеви (да/не)	0 / 11	2 / 47	$\chi_3^2 = 0.464$ $p = 0.496$
RVP **> 18 с (да/не)	4 / 7	1 / 48	$\chi_4^2 = 13.854$ $p = 0.000$

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни

**RVP- превремено прснуће плодних овојака

Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-у 20,0

4.3.1.5. χ^2 - тест: транспорт новорођене деце

У погледу врсте транспорта нема статистички значајне разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа, тако да је популација хомогена у погледу ове карактеристике- емпиријска вредност $\chi^2=0,208 < 3,841459$ и значајност $p(\chi^2)=0,931 > \alpha=0,05$.

Табела 25: Контингенције променљиве врста транспорта

транспорт санитетом	број деце КУ	број деце ИУ	укупно
	I	II	
да	23	6	29
не	26	5	31
укупно	49	11	60

*ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак
не- мајке живе на територији Крагујевца или су новорођена деца транспортована in itero.*

4.3.1.6. χ^2 - тест: реанимација на рођењу

И за испитивање реанимације на рођењу, вредност χ^2 теста је мања од теоријске, $\chi^2=1,002 < 3,841459$ и значајност теста је већа од α , $P(\chi^2)=0,317 > \alpha=0,05$, па се прихвата нулта претпоставка да нема статистички значајне разлике у вредностима опсервација у ова два подскупа и да је популација хомогена у погледу посматране карактеристике.

Табела 26: Контингенције променљиве реанимација на рођењу

реанимација	број деце КУ	број деце ИУ	укупно
	I	II	
да	26	4	29
не	23	7	31
	49	11	60

укупно			
--------	--	--	--

IY- испитивани узорак, KY- контролни узорак

4.3.2. Тестирање претпоставке о једнакости аритметичких средина пресепсина (из трахелног аспирата) помоћу Студентовог t -теста

4.3.2.1. Студентов t тест- гестациона старост

Помоћу Shapiro-Wilkovog теста, тестиране су претпоставке за сваки узорак посебно за променљиву гестациона старост. Како је значајност $p=0,200 > \alpha=0,05$ (колона III у табели 27) у испитиваном и у контролном узорку, то се променљива гестациона старост у оба узорка може апроксимирати нормалним распоредом. Тиме је испуњен услов за примену Студентовог t-теста.

Табела 27 : Тест нормалности променљиве гестациона старост

узорци	Shapiro-Wilk test		
	I	II	III
	статистике	df	значајн. p.
KY	0,971	49	0,200
IY	0,943	11	0,200

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СИСС-у 20.0

Значајн.- значајност

IY- испитивани узорак, KY- контролни узорак

У табели 28 приказане су резултати Levenovog – теста тестирања испитиване променљиве (колона I и II). У овом истраживању варијансе подскупова популације су непознате. Статистике Levenovog теста показују да Snedecorova F статистика износи 0,022 и да је

значајност $p(F)=0,883$ већа од ризика грешке $\alpha=0,05$ ($p=0,883>\alpha$, II колона табеле), па се прихвата претпоставка да су варијансе подскупова из којих су изабрани узорци једнаке.

Студентова t статистика ($t=0,972$) и њена значајност $p=0,335$ ($p>\alpha$, $\alpha=0,05$, колоне III и IV) показују да не постоји статистички значајна разлика између средњих вредности испитиваних група. Разлике између група настају случајно.

Генерални закључак је: на ниво значалности теста $\alpha=0,05$ прихваћене су претпоставке да се посматране карактеристике, гестациона старост испитиваног и контролног подскупа популације, могу апроксимирати нормалним распоредом; да су варијансе подскупова једнаке, као и да су подскупови популације једнаки у погледу посматране карактеристике.

Табела 28: Статистике тестирања претпоставке о једнакости аритметичких средина популације помоћу t - теста

променљива	Levenov тест за једнакост варијансе		Студентов t - тест за једнакост средина	
	Snedecorova F-статист.	значајност $p(F)$	t - статистика	значајност $p(t)$
	I	II	III	IV
гестациона старост	0,022	0,883	0,972	0,335
	разлика аритметичких средина ($\mu_1-\mu_2$)	стандардна грешка разлике	95% интервал поверења разлике аритметичких средина	
	1,397	1,399	доња граница	горња граница
			-1,579	4,373

Извор: Самостално истраживање кандидата, прорачун у СПСС 20.0

4.3.2.2. Студентов t тест- порођајна телесна маса

Помоћу Shapiro-Wilkovog теста, тестиране су претпоставке за сваки узорак посебно за променљиву порођајна телесна маса. Како је значајност $p=0,200>\alpha=0,05$ (колона III у табели 29) у испитиваном и у контролном узорку, то се променљива порођајна телесна

маса у оба узорка може апроксимирати нормалним распоредом. Тиме је испуњен услов за примену Студентовог т-теста.

Табела 29 : Тест нормалности променљиве порођајна телесна маса

узорци	Shapiro-Wilk test		
	I	II	III
	статистике	df	значајн. р.
КУ	0,968	49	0,200
ИУ	0,930	11	0,200

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Значајн. - значајност

ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак

У табели 30 приказане су резултати Levenovog – теста тестирања испитиване променљиве (колоне I и II). У овом истраживању варијансе подскупова популације су непознате. Статистике Levenovog теста показују да Snedecorova F статистика износи 0,715 и да је значајност $p(F)=0,401$ већа од ризика грешке $\alpha=0,05$ ($p=0,401 > \alpha$, II колоне табеле), па се прихвата претпоставка да су варијансе подскупова из којих су изабрани узорци једнаке.

Студентова t статистика ($t=1,101$) и њена значајност $p=0,275$ ($p > \alpha$, $\alpha =0,05$, колоне III и IV) показују да не постоји статистички значајна разлика између средњих вредности испитиваних група. Разлике између група настају случајно.

Генерални закључак је: на ниво значалности теста $\alpha=0,05$ прихваћене су претпоставке да се посматране карактеристике, порођајна телесна маса испитиваног и контролног подскупа популације, могу апроксимирати нормалним распоредом; да су варијансе подскупова једнаке, као и да су подскупови популације једнаки у погледу посматране карактеристике.

Табела 30: Статистике тестирања претпоставке о једнакости аритметичких средина популације помоћу t - теста

променљива	Levenov тест за једнакост варијансе		Студентов t- тест за једнакост средина	
	Snedecorova F-статист.	значајност p(F)	t- статистика	значајност p(t)
	I	II	III	IV
	0,715	0,401	1,101	0,275
порођајна телесна маса	разлика аритметичких средина ($\mu_1 - \mu_2$)	стандардна грешка разлике	95% интервал поверења разлике аритметичких средина	
			доња граница	горња граница
	374,694	299,268	-255,497	1004,885

Извор: Самостално истраживање кандидата, прорачун у СПСС 20.0

4.3.2.3. Студентов t тест- неутрофили

Помоћу Shapiro-Wilkovog теста, тестиране су претпоставке за сваки узорак посебно за променљиву гестациона старост. Како је значајност $p=0,200 > \alpha=0,05$ (колона III у табели 31) у испитиваном и у контролном узорку, то се променљива неутрофили (%) у оба узорка може апроксимирати нормалним распоредом. Тиме је испуњен услов за примену Студентовог t-теста.

Табела 31 : Тест нормалности променљиве неутрофили

узорци	Shapiro-Wilk test		
	I	II	III
	статистике	df	значајн. p.
КУ	0,978	49	0,200
ИУ	0,946	11	0,200

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Значајн.- значајност

ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак

У табели 32 приказане су резултати Levenovog – теста тестирања испитиване променљиве (колона I и II). У овом истраживању варијансе подскупова популације су непознате.

Статистике Levenovog testa показују да Snedecorova F статистика износи 1,059 и да је значајност $p(F)=0,308$ већа од ризика грешке $\alpha=0,05$ ($p=0,308>\alpha$, II колона табеле), па се прихвата претпоставка да су варијансе подскупова из којих су изабрани узорци једнаке.

Студентова t статистика ($t=1,140$) и њена значајност $p=0,257$ ($p>\alpha$, $\alpha=0,05$, колоне III и IV) показују да не постоји статистички значајна разлика између средњих вредности испитиваних група. Разлике између група настају случајно.

Генерални закључак је: на ниво значалности теста $\alpha=0,05$ прихваћене су претпоставке да се посматране карактеристике, неутрофили (%) испитиваног и контролног подскупа популације, могу апроксимирати нормалним распоредом; да су варијансе подскупова једнаке, као и да су подскупови популације једнаки у погледу посматране карактеристике.

Табела 32: Статистике тестирања претпоставке о једнакости аритметичких средина популације помоћу t - теста

променљива	Levenov тест за једнакост варијансе		Студентов t- тест за једнакост средина	
	Snedecorova F-статист.	значајност $p(F)$	t- статистика	значајност $p(t)$
	I	II	III	IV
Неутрофили %	1,059	0,308	-1,380	0,184
	разлика аритметичких средина ($\mu_1-\mu_2$)	стандардна грешка разлике	95% интервал поверења разлике аритметичких средина	
	-4,9926		доња граница	горња граница
		3,6177	-2,5768	12,5768

Извор: Самостално истраживање кандидата , прорачун у СПСС 20.0

4.3.2.4. Студентов t тест- пресепсин (из трахеалног аспирата)

Претпоставке су тестиране помоћу Shapiro-Wilkovog теста за сваки узорак посебно за променљиву пресепсин (из трахеалног аспирата). Како је сигнификантност $p=0,138>\alpha=0,05$ (колона III у табели 33) у испитиваном узорку, то се променљива пресепсин (из трахеалног

аспирата) у том узорку може апроксимирати нормалним распоредом. За контролни узорак значајност $p < \alpha$ па се изводи закључак да се посматрана променљиве у контролном узорку не може апроксимирати нормалним распоредом. Пошто је број опсервација у контролном узорку $n_k = 49 > 30$, то се, по централној граничној теореми, сваки распоред за $n > 30$ може апроксимирати нормалним распоредом. Пошто се променљива пресепсин (из трахеалнг аспирата) у оба узорка може апроксимирати нормалним распоредом, то је испуњен услов за примену Студентовог т-теста.

Табела 33 : Тест нормалности променљиве пресепсин (из трахеалног аспирата)

узорци	Shapiro-Wilk test		
	I	II	III
	статистике	df	значајн. р.
КУ	0,826	49	0,000
ИУ	0,890	11	,138

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Значајн. - значајност

ИУ- испитивани узорак, КУ- контролни узорак

У табели 34 приказане су резултати Levenovog – теста тестирања испитиване променљиве (колона I и II). У овом истраживању варијансе подскупова популације су непознате.

Статистике Levenovog теста показују да Snedecorova F статистика износи 8,526 и да је значајност $p(F) = 0,005$ мања од ризика грешке $\alpha = 0,05$ ($p = 0,005 < \alpha$, II колона табеле), па се прихвата претпоставка да су варијансе подскупова из којих су изабрани узорци различите.

Студентова t статистика ($t = 1,300$) и њена значајност $p = 0,219$ ($p > \alpha$, $\alpha = 0,05$, колоне III и IV) показују да не постоји статистички значајна разлика између средњих вредности испитиваних група. Разлике између група настају случајно.

Генерални закључак је: на ниво значалности теста $\alpha=0,05$ прихваћене су претпоставке да се посматране карактеристике, пресепсин из трахеалног аспирата испитиваног и контролног подскупа популације, могу апроксимирати нормалним распоредом; да су варијансе подскупова различите, као и да су подскупови популације једнаки у погледу посматране карактеристике.

Табела 34: Статистике тестирања претпоставке о једнакости аритметичких средина популације помоћу t - теста

променљива	Levenov тест за једнакост варијансе		Студентов t- тест за једнакост средина	
	Snedecorova F-статист.	значајност p(F)	t- статистика	значајност p(t)
	I	II	III	IV
пресепсин (из трахеалног аспирата) pg/ml	8,526	0,005	1,300	0,219
	разлика аритметичких средина ($\mu_1-\mu_2$)	стандардна грешка разлике	95% интервал поверења разлике аритметичких средина	
			доња граница	горња граница
	265,70612	204,44264	-181,32280	712,73505

Извор: Самостално истраживање кандидата , прорачун у СПСС 20.0

4.3.3. Тестирање значајности непараметријским Mann Whitney-тестом

Mann Whitney је непараметријски тест који се употребљава за испитивање разлика између две независне групе на непрекидној скали.

У првом кораку се тестирају претпоставке о нормалности независно променљивих обављено је помоћу Shapiro-Wilkovog теста у СПСС- у, пошто је величина оба узорка мања од 50 елементарних јединица- новорођене деце.

Услов за примену Mann Whitney теста је да, за испитивани и контролни узорак значајност буде $p < \alpha$ ($\alpha = 0,05$). Тада се изводи закључак да се посматрана променљиве у оба узорка (контролни и испитивани) не могу апроксимирати нормалним распоредом. Како је код појединих параметара (леукоцити и пресепсин (из плазме)) у испитиваној групи значајност $p > \alpha$ ($\alpha = 0,05$), урађен Shapiro-Wilkovog тест за укупан узорак новорођене деце ($n = 60$) за поменуте параметре. Обзиром на мали узорак у испитиваној групи ($n = 11$) и добијену значајност за целокупан узорак, за оба параметра $p = 0,000$ ($p < \alpha$ ($\alpha = 0,05$)), примењен је Mann Whitney тест.

Претпоставке су тестиране помоћу Shapiro-Wilkovog теста за сваки узорак (контролни и испитивани) посебно за променљиве: апгар скор, леукоцити, CRP, PCT и пресепсин (из плазме). Подаци су приказани у табели 35.

Табела 35: Тест нормалности променљивих

променљиве		Shapiro-Wilk test		
		I	II	III
		статистике	df	значајн. p.
апгар скор	KY / ИУ	0,892 / 0,820	49 / 11	0,000 / 0,024
леукоцити $\times 10^9/L$	KY / ИУ	0,493 / 0,947	49 / 11	0,000 / 0,606
CRP mg/L	KY / ИУ	0,452 / 0,680	49 / 11	0,000 / 0,002
PCT ng/ml	KY / ИУ	0,723 / 0,652	49 / 11	0,000 / 0,000
пресепсин (из плазме) pg/ml	KY / ИУ	0,800 / 0,904	49 / 11	0,000 / 0,208

значајн. - значајност

У табели 36 приказани су резултати Mann-Whitney (Z) теста за променљиве: апгар скор ($Z_1 = -0,926$), CRP ($Z_3 = -1,090$), PCT ($Z_4 = -1,137$) и пресепсин (из плазме) ($Z_5 = -1,576$), уз ниво значајности $p_1 = 0,354$, $p_3 = 0,276$, $p_4 = 0,256$ и $p_5 = 0,115$. Ниво значајности није

мањи нити једнак 0,05, тј ($p > 0,05$) ни за једну променљиву, те резултат Z теста није статистички значајан. Не постоји статистички значајна разлика у оцени на рођењу (апгар скор) између две испитиване групе. Ни један од поменутих маркера (CRP, PCT и пресепсин из плазме) појединачно анализиран није се показао као статистички значајан за дијагнозу неонаталне инфекције. Насупрот њима, резултат Mann-Whitney (Z) теста за леукоците износи ($Z_2 = -2,627$), уз ниво значајности $p_2 = 0,009$ ($p_2 < \alpha$, $\alpha = 0,05$) указује на статистички значајну разлику у погледу укупног броја леукоцита између две испитиване групе.

Табела 36: Значајност маркера инфламације

Варијабле (\bar{x})	I (n=11)	II (n=49)	Вредност теста и значајност нулте хипотезе
апгар скор	6.45±2.58	5.78±2.76	$Z_1 = -0.926$ $p_1 = 0.354$
леукоцити $\times 10^9$	23.127±9.673	16.726±13.887	$Z_2 = -2.627$ $p_2 = 0.009$
CRP mg/l	3.45±1.445	2.90±1.418	$Z_3 = -1.090$ $p_3 = 0.276$
PCT ng/l	25.111±36.968	9.721±11.964	$Z_4 = -1.137$ $p_4 = 0.256$
пресепсин (из плазме)	828.545±348.618	681.495±460.612	$Z_5 = -1.576$ $p_5 = 0.115$

*I узорак- испитиван; II узорак- контролни
Извор: Самостално истраживање, прорачун у SPSS-и 20,0

4.4. Мерење утицаја независно променљивих на зависно променљиве

4.4.1. Корелација између променљивих

Истраживање у овом одељку спроведено је у два смера. Наиме, мерена је корелација, интеракцијска веза између:

- променљивих пресепсина (из плазме) и независно променљивих

- променљивих пресепсина (из трахелног аспирата) и независно променљивих

Добијени су следећи резултати:

ПРЕСЕПСИН (ИЗ ПЛАЗМЕ)

4.4.1.1. Коefицијенти просте линеарне корелације

Мерена је корелација, интеракцијска веза између пресепсина (из плазме) и независно променљивих.

Нулта претпоставка је: коefицијент просте линеарне корелације у популацији је једнак нули;

Алтернативна претпоставка је: коefицијент просте линеарне корелације у популацији је различит од нуле.

Променљиве су: пресепсин (из плазме)- врста порођаја, пресепсин (из плазме)- врста плодове воде, пресепсин (из плазме)- гестациона старост, пресепсин (из плазме)- порођајна телесна маса, пресепсин (из плазме)- апгар скор, пресепсин (из плазме)- леукоцити, пресепсин (из плазме)- неутрофил, пресепсин (из плазме)- Ц реактивни протеин (CRP), пресепсин (из плазме)- прокалцитонин (PCT), пресепсин (из плазме)- сепса, пресепсин (из плазме)- СИРС, пресепсин (из плазме)- пресепсин (из трахеалног аспирата).

**Табела 37: Коefицијенти просте линеарне корелације
Y-пресепсина(плазма)**

променљива (X)	коefицијент корелације	
	I	II
порођај (п)	,255	,025
плодова вода (впв)	,347	,003

гестациона старост (гс)	,067	,305
порођајна телесна маса	,079	,273
апгар скор	,016	,450
Леукоцити (л)	,270	,019
Неутрофили (н)	-,133	,156
CRP	,231	,038
PCT	,329	,005
Сепса (с)	,032	,808
СИРС	0,16	,221
пресепсин (из плазме) (ППЛ)	1,000	
пресепсин (из трахеалног аспирата) (ПТА)	,317	,007
инфекција мајке (им)	,053	,342

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Статистички су значајни прости линеарни коефицијенти корелације између следећих променљивих (болдиране вредности у табели): пресепсин (из плазме)- врста порођаја ($p_p=0,025 < \alpha=0,05$), пресепсин (из плазме)- врста плодове воде ($p_{впв}=0,003 < \alpha=0,05$), пресепсин (из плазме)- леукоцити ($p_l=0,019 < \alpha=0,05$), пресепсин (из плазме)- CRP ($p_{срп}=0,038 < \alpha=0,05$), пресепсин (из плазме)- PCT ($p_{рст}=0,005 < \alpha=0,05$) и пресепсин (из плазме)- пресепсин (из трахеалног аспирата) ($p_{пта}=0,007 < \alpha=0,05$). За наведене променљиве коефицијент прости линеарне корелације налази се у интервалу од 0,231 (променљива CRP) до 0,347 (врста плодове воде). На нивоу значајности теста за наведене променљиве усваја се алтернативна претпоставка да се коефицијент прости линеарне корелације у популацији разликују од нуле и да постоји статистички значајна корелација (веза) између наведених променљивих.

Изузетно ниска вредност коефицијента корелације $r_{ппл,гс}=0,067$; $r_{ппл,птм}=0,079$; $r_{ппл,ас}=0,016$, $r_{ппл,н}=-0,133$; $r_{ппл,с}=0,032$; $r_{ппл,сирс}=0,032$ и $r_{ппл,им}=0,053$ и њихова статистичка значајност $p_{гс}=0,305 > \alpha=0,05$; $p_{птм}=0,273 > \alpha=0,05$ $p_{ас}=0,45 > \alpha=0,05$; $p_{н}=0,156 > \alpha=0,05$; $p_{с}=0,808 > \alpha=0,05$; $p_{сирс}=0,221 > \alpha=0,05$ и $p_{им}=0,342 > \alpha=0,05$ указују да, на нивоу значајности теста $\alpha=0,05$, се коефицијенти прости линеарне корелације у популацији статистички значајно

не разликују од нуле (усваја се нулта претпоставка) и да не постоји статистички значајно квантитативно слагање између: пресепсин (из плазме)- гестациона старост, пресепсин (из плазме)- порођајна телесна маса, пресепсин (из плазме)- апгар скор; пресепсин (из плазме)- неутрофил; пресепсин (из плазме)- сепсе; пресепсин (из плазме)- СИРС-а, као и пресепсин (из плазме)- инфекције мајке.

4.4.1.2. Вишеструки коефицијент корелације између пресепсина и адитивног дејства променљивих: врсте порођаја, врсте плодове воде, леукоцита, Ц реактивног протеина, прокалцитонина и пресепсина (из трахеалног аспирата)

Вишеструки коефицијент корелације између пресепсина (из трахеалног аспирата) и адитивног дејства следећих променљивих; врсте порођаја (x_1), врсте плодове воде (x_2), леукоцита (x_3), Ц реактивног протеина (x_4), прокалцитонина (x_5) и пресепсина (из трахеалног аспирата) (x_6), тј свих променљивих које су имале статистички значајне коефицијенте прости линеарне корелације, је $r_p(x_1, x_2, x_3, x_4, x_5, x_6) = 0,53$. У овом случају наведени резултат значи да постоји корелација између адитивног дејства наведених променљивих и променљиве пресепсин (из плазме). Такође, закључак је да је коефицијент вишеструке корелације у популацији различит од нуле (прихвата се алтернативна претпоставка).

4.4.1.3. Регресиони модел утицаја независно променљивих на пресепсин (из плазме)

У овом делу анализирани су и тестирани дводимензионални линеарни и нелинеарни модели да би се одредио облик утицаја поједине независно променљиве на зависно променљиву- пресепсин (из плазме). Експериментисано је са 11 различитих модела који су доступни у СПСС-у.

Нулта претпоставка је: коефицијент уз независно променљиву у регресији у популацији се статистички значајно не разликују од нуле.

Алтернативна претпоставка је: коефицијент уз независно променљиву у регресији у популацији се статистички значајно разликују од нуле.

На зависно променљиву пресепсин (из плазме), статистички значајан утицај имају следеће променљиве: врста порођаја, врста плодове воде, леукоцити, Ц реактивни протеин, прокалцитонин и пресепсин (из трахеалног аспирата). Статистике одабраних регресионих правих/кривих, на основу максималне вредности Snedekorove F статистике и минималне вредности $p(F) < \alpha = 0,05$ приказане су у табели 38.

Табела 38: Коефицијенти корелације, детерминације, Студентова F-статистика и њена сигнификантност димензионалног регресионог модела

променљиве	статистике узорка			
	коефицијент корелације R	коефицијент детерминације R ²	Студентова F-статистика	сигнификантност p(F-статистик)
	I	II	III	IV
врста порођаја	0,301	0,09	5,768	0,02
врста плодове воде	0,3464	0,12	7,945	0,007
леукоцити	0,0270	0,073	4,544	0,037
CRP	0,0270	0,073	4,583	0,037
PCT	0,3286	0,108	7,052	0,010
пресепсин (из трахеалног аспирата)	0,316	0,100	6,470	0,014

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Табела 39: Облик димензионалне регресионе праве/криве утицаја независно променљивих на зависно и статистике регресија узорка

врста порођаја: $\hat{y}_i = b_0 x_i^{b_1}$					плодова вода: $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$				
парамет популац	коэф. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	значај. p(t)	парамет популац	коэф. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	значај. p(t)
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
β_1	,593	,129	4,595	,000	β_1	-338,601	120,124	-2,819	,007
β_0	1173,96	374,643	3,133	,003	β_0	1289,78	213,199	6,049	,000
леукоцити: $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$					Ц реактивни протеин: $\hat{y}_i = b_0 + b_1 \ln x_i$				
парамет популац	коэф. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	сигниф. p(t)	парамет популац	коэф. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	сигниф. p(t)
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
β_1	8,931	4,190	2,132	,037	β_1	76,128	35,560	2,141	,037
β_0	548,596	93,348	5,877	,000	β_0	608,470	72,585	8,383	,000
прокалцитонин: $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$					Пресепсин (из трахеалног аспирата): $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$				
парамет популац	коэф. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	значај. p(t)	парамет популац	коэф. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	значај. p(t)
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
β_1	7,447	2,804	2,656	,010	β_1	,310	,122	2,544	,014
β_0	615,049	64,864	9,482	,000	β_0	560,162	79,974	7,004	,000

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Парам.популц.- параметар популације; коэф.регрес.- коефицијент регресије;
станд.грешка- стандардна грешка; Студент t- статист.- Студентова t-статистика;
значај.- значајност

Линеарна регресија се најбоље прилагођава следећим варијаблама- зависно променљива пресепсин (из плазме): плодова вода (Табела 38: ($R^2=0,12$; $F=7,945$, $p(F)=0,007$)), леукоцити ($R^2=0,073$; $F=4,544$, $p(F)=0,037$), прокалцитонин ($R^2=0,108$; $F=7,052$, $p(F)=0,01$), пресепсин (из трахеалног аспирата) ($R^2=0,1$; $F=6,47$, $p(F)=0,014$). Променљивој врста порођаја најбоље се прилагођава степена крива ($R^2=0,09$; $F=5,768$, $p(F)=0,02$). На крају, променљива- Ц реактивни протеин има утицај на зависно променљиву- пресепсин (из плазме) у облику полулогаритамске криве ($R^2=0,073$; $F=4,583$, $p(F)=0,037$) (Табела 38). Све Snedecorove F статистике су веће од теоријске вредности $F_{1,58;0,05} = 4,006873$ и сигнификантност $p < \alpha = 0,05$ (Табела 38, IV колона), тако да су све регресије утицаја појединих променљивих на пресепсин (из плазме) статистички значајне. Највећи појединачни утицај на зависно променљиву- има променљива врста порођаја ($t=4,595$).

Студентове t – статистике и њихове значајности (Табела 39, IV и V колона), такође указују на статистичку значајност утицаја наведених променљивих. Све вредности t -статистика су веће од теоријске вредности $t_{58;0,05} = 2,001717$ и њена вероватноћа, за све променљиве, је мања од критичне вредности, тј. $p < \alpha = 0,05$. Коефицијент уз независно променљиву плодова вода је негативан, што значи да са порастом независно променљиве зависно променљива опада и обрнуто. Тумачење је да је модалитет обележја означава квалитет плодове воде и виши ниво квалитета је бистра-2, а нижи остало-1. За бистру плодovu воду нижа је вредност пресепсина (из плазме) у организму и обрнуто. За модалитет обележја врста порођаја, виши ниво квалитета је природни порођај-2, а нижи порођај завршен царским резом-1. Вредности пресепсина (из плазме) биле су више код новорођенчади рођене природним путем. Коефицијент детерминације се креће у интервалу од 0,073 за променљиве леукоцити и Ц реактивни протеин до 0,12 за променљиву врста плодове воде (Табела 39, II колона). Коефицијент детерминације од 0,073 показује да је 7,3 % варијабилитета зависно променљиве- пресепсин (из плазме) објашњено варијабилитетом независно променљиве-леукоцити или Ц реактивни протеин, а коефицијент детерминације од 0,12 показује да је 12,0% варијабилитета зависно променљиве пресепсин (из плазма) објашњено варијабилитетом независно променљиве врста плодове воде.

Остале независно променљиве: гестациона старост, порођајна телесна маса, апгар скор, неутрофили, сепса, СИРС-а, као и инфекција мајке немају статистички значајан утицај на зависно променљиву- пресепсин (из плазме), односно значајност $r(F)$ њихових одабраних регресионих правих/кривих већа је од нивоа значајности теста $\alpha = 0,05$. Вредности значајности су следеће: гестациона старост- $r(F) = 0,415$, порођајна телесна маса- $r(F) = 0,124$,

апгар скор- $p(F)=0,289$, неутрофили- $p(F)=0,058$, сепса- $p(F)=0,889$, СИРС- $p(F)=0,295$, као и инфекција мајке- $p(F)=0,438$.

4.4.1.4. Коefицијент еластичности

Коefицијент еластичности праве зависи од независно променљиве, па је стога коefицијент еластичности израчунат за аритметичку средину оцена променљивих: леукоцити, прокалцитонин, пресепсин (из трахеалног аспирата). За променљиву врста плодове воде коefицијент еластичности је израчунат за вредност 2-бистра плодова вода, јер је то виши ниво квалитета резултата. За променљиву Ц реактивни протеин, коefицијент еластичности израчунат је за аритметичку средину. Највећи коefицијент еластичности је за променљиву врста плодове воде, а најмањи за Ц реактивни протеин. Ако се независно променљиве врста плодове воде промени за 1%, променљива пресепсин (из плазме) ће се променити у супротном смеру за 1,105% или ако се променљива Ц реактивни протеин повећа за 1%, тада ће се променљива пресепсин (из плазме) повећати за 0,0434% и обрнуто. Такође, и променљива врста порођаја има висок утицај на зависно променљиву, односно, ако се наведена променљива повећа за 1% зависно променљива ће се повећати за 0,593% и обрнуто.

Табела 40: Коefицијенти еластичности дводимензионалних регресионих модела

променљиве	коefицијент еластичности	променљиве	коefицијент еластичности
врста порођаја	0,593	Ц реактивни протеин	0,0434
врста плодове воде	-1,105	прокалцитонин	0,1318
леукоцити	0,2257	пресепсин (из трах.асп.)	0,2092

Извор: коefицијенти обрачунати на основу табела 22 и 23

ПРЕСЕПСИН (ИЗ ТРАХЕАЛНОГ АСПИРАТА)

4.4.1.5. Коefицијенти просте линеарне корелације

Мерена је корелација, интеракцијска веза између пресепсина (из трахеалног аспирата) и независно променљивих.

Нулта претпоставка је: коefицијент просте линеарне корелације у популацији је једнак нули;

Алтернативна претпоставка је: коefицијент просте линеарне корелације у популацији је различит од нуле.

Променљиве су: пресепсин (из трахеалног аспирата)- врста порођаја, пресепсин (из трахеалног аспирата)- врста плодове воде, пресепсин (из трахеалног аспирата)- гестациона старост, пресепсин (из трахеалног аспирата)- порођајна телесна маса, пресепсин (из трахеалног аспирата)- апгар скор, пресепсин (из трахеалног аспирата)- леукоцити, пресепсин (из трахеалног аспирата)- неутрофил, пресепсин (из трахеалног аспирата)- Ц реактивни протеин, пресепсин (из трахеалног аспирата)- прокалцитонин, пресепсин (из трахеалног аспирата)- сепса, пресепсин (из трахеалног аспирата)- СИРС, пресепсин (из трахеалног аспирата)- пнеумонија и пресепсин (из трахеалног аспирата)- РДСу.

Коefицијенти просте линеарне корелације између променљивих: пресепсин (из трахеалног аспирата) (пта) и пресепсин (из плазме) (ппл), пресепсин (из трахеалног аспирата) и инфекција мајке (им) и пресепсин (из трахеалног аспирата) и пнеумоније (пн) су: $r_{пта,ппл}=0,317$; $r_{пта,им}=-0,314$ $r_{пта,пн}=0,353$ и ниска вредност његове статистичке значајности $p_{ппл}=0,014$; $p_{им}=0,015$ и $p_{пн}=0,006 < \alpha=0,05$ показују да постоји статистички значајна корелација између њих, односно коefицијенти просте линеарне корелације у

популацији се статистички значајно разликује од нуле (прихвата се алтернативна претпоставка). Пошто је коефицијент просте линеарне корелације између променљивих пресепсин (из трахеалног аспирата) и инфекције мајке (ИМ) негативан, то значи да између променљивих постоји инверзно слагање, односно са порастом једне променљиве друга опада и обрнуто. За модалитет обележја инфекција мајке, виши ниво квалитета је нема инфекције-2, а нижи постоји инфекција код мајке-1. Вредности пресепсина (трахеалног аспирата) биле су ниже код новорођенчади чије мајке нису имале инфекцију.

Изузетно ниске вредности коефицијената корелације, крећу се у интервалу 0,011 пресепсин (из трахеалног аспирата)- прокалцитонин до 0,233 пресепсина (из трахеалног аспирата)- порођајна телесна маса и високе вредност њихове статистичке значајности (крећу се у интервалу $r_{\text{пта,птм}}=0,073$ до $r_{\text{пта,пцт}}=0,719$) која је већа од нивоа значајности теста $\alpha=0,05$ указују да се, на нивоу значаности теста $\alpha=0,05$, коефицијенти просте линеарне корелације у популацији статистички значајно не разликују од нуле (усваја се нулта претпоставка), а то значи да не постоји статистички значајно квантитативно слагање између пресепсина (из трахеалног аспирата)- врста порођаја, пресепсина (из трахеалног аспирата)- врста плодове воде, пресепсина (из трахеалног аспирата)- гестациона старост, пресепсина (из трахеалног аспирата)- порођајна телесна маса, пресепсина (из трахеалног аспирата)- апгар скор, пресепсина (из трахеалног аспирата)- леукоцити, пресепсина (из трахеалног аспирата)- неутрофили, пресепсина (из трахеалног аспирата)- Ц реактивни протеин, пресепсина (из трахеалног аспирата)- прокалцитонин, пресепсина (из трахеалног аспирата) и сепсе, пресепсина (из трахеалног аспирата) и СИРС-а, као и пресепсина (из трахеалног аспирата) и РДСу.

4.4.1.6. Вишеструки коефицијент корелације између пресепсина (из трахеалног аспирата) и адитивног дејства променљивих: пресепсина (из плазме), инфекције мајке и пнеумоније

Вишеструки коефицијент корелације израчунат је само између променљивих које су имале статистички значајне коефицијенте просте линеарне корелације, је

$r_{\text{пта}}(X_{\text{плл}}, X_{\text{им}}, X_{\text{пн}}) = 0,527$. У овом случају наведени резултат значи да постоји корелација између адитивног дејства променљивих: пресепсина (из плазме), инфекције мајке и завршне дијагнозе пнеумонија и променљиве пресепсина (из трахеалног аспирата).

Такође, закључак је да је коефицијенти вишеструке корелације у популацији различит од нуле (прихвата се алтернативна претпоставка).

4.4.1.7. Регресиони модел утицаја независно променљивих на зависно променљиву пресепсин у трахеалном аспирату

Као и у претходном делу одређени су и тестирани дводимензионални линеарни и нелинеарни регресиони модели, како би се одредио тип, облик и смер функционалне зависности између појединих независно променљивих и зависно променљиве- пресепсина (из трахеалног аспирата). Експериментисано је са 11 различитих модела који су доступни у СПСС.

Нулта претпоставка је: коефицијент уз независно променљиву у регресији у популацији се статистички значајно не разликују од нуле.

Алтернативна претпоставка је: коефицијент уз независно променљиву у регресији у популацији се статистички значајно разликују од нуле.

На зависно променљиву пресепсина (из трахеалног аспирата) у дводимензионалном регресионом моделу, статистички значајан утицај имају следеће променљиве: порођајна телесна маса, пресепсин (из плазме), инфекција мајке и пнеумонија. Статистике специфицираних правих/кривих приказане су у табели број 41 и у табели број 42.

Табела 41: Коefицијенти корелације, детерминације, Студентова Ф-статистика и њена сигнификантност дводимензионалног регресионог модела

променљиве	статистика узорка			
	коefицијент корелације R	коefицијент детерминације R ²	Студентова Ф-статистика	Signifikantnost p(F-statistik)
	I	II	III	IV
порођајна телесна маса	0,295	0,087	5,511	,022
персепсин (из плазме)	0,337	0,114	7,436	,008
инфекција мајке	0,314	0,099	6,341	,015
пнеумонија	0,353	0,125	8,273	,006

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Табела 42: Облик дводимензионалне регресионе праве/криве утицаја независно променљивих на зависно и статистике регресија узорака

порођајна телесна маса: $\hat{y}_i = \exp(b_0 + b_1 / x_i)$					пресепсин (из плазме): $\hat{y}_i = b_0 x_i^{b_1}$				
парамет. популац.	коefици. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	сигниф. p(t)	парамет. популац.	коefици. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	сигниф. p(t)
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
β_1	-1242,52	529,262	-2,348	,022	β_1	,425	,156	2,727	,008
β_0	6,327	,303	20,886	,000	β_0	19,904	19,869	1,002	,321
инфекција мајке: $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$					пнеумонија: $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$				
парамет. популац.	коefици. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	сигниф. p(t)	парамет. популац.	коefици. регрес.	станд. грешка	Студент t-статист.	сигниф. p(t)
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
β_1	-509,949	202,518	-2,518	,015	β_1	346,160	120,349	2,876	,006
β_0	1455,509	392,174	3,711	,000	β_0	-110,366	211,896	-,521	,604

*Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0
Парам.популц.- параметар популације; коэф.регрес.- коефицијент регресије;
станд.грешка- стандардна грешка; Студент t- статист.- Студентова t-статистика;
сигниф.- сигнификантност*

Променљива инфекција мајке (Табела 41 ($R^2=0,099$; $F=6,341$ и $p(F(0,015))$) и пнеумонија ($R^2=0,125$; $F=8,273$ и $p(F)=0,006$) најбоље се прилагођава линеарна регресија. Степена регресија се најбоље прилагођава променљивој пресепсин (из плазме) ($R^2=0,099$; $F=6,341$ и $p(F(0,015))$), а порођајна телесна маса има утицај на зависно променљиву у облику S-криве ($R^2=0,087$; $F=5,511$, $p(F)=0,0022$) (Табела 41). Све Snedecorove F статистике су веће од теоријске вредности $F_{1,58;0,05}= 4,006873$ и сигнификантност $p<\alpha=0,05$ (Табела 41, III и IV колона), тако да су све регресије утицаја појединих променљивих на пресепсин (из трахеалног аспирата) статистички значајне. Све променљиве имају приближно исти утицај (вредности t- статистика се налазе у интервалу од 2 до 3). Све вредности t- статистика су веће од теоријске вредности $t_{58;0,05}= 2,001717$ и њена вероватноћа, за све променљиве, је мања од критичне вредности, тј. $p<\alpha=0,05$. Коефицијент уз независно променљиву инфекција мајке је негативан, што значи да са порастом независно променљиве зависно променљива (пресепсин из трахеалног аспирата) опада и обрнуто. Како је за модалитет обележја инфекција мајке, виши ниво квалитета је нема инфекције-2, а нижи постоји инфекција код мајке-1, следи да што је више могућности да мајка нема инфекцију (модалитет 2) биће ниже вредности пресепсина из трахеалног аспирата, и обрнуто.

Коефицијент детерминације се креће у интервалу од 0,087 (порођајна телесна маса) до 0,125 (пнеумонија) (Табела 41, II колона). Коефицијент детерминације од 0,087 показује да је 8,7 % варијабилитета зависно променљиве објашњено варијабилитетом независно променљиве-порођајна телесна маса, а коефицијент детерминације од 0,125 показује да је

12,5% варијабилитета зависно променљиве пресепсин (из трахеалног аспирата) објашњено варијабилитетом независно променљиве завршна дијагноза пнеумонија.

4.4.1.8. Коefицијент еластичности

Као што је већ наглашено коefицијент еластичности за праву зависи од независно променљиве тако да је за променљиву инфекција мајке израчунат за вредност опсервације 2-нема инфекције и за променљиву пнеумонија 1-има пнеумонију. Коefицијент еластичности за променљиву пресепсин (из трахеалног аспирата) израчунат је за просечну вредност телесне масе новорођене деце 2386гр. Коefицијент еластичности за променљиву порођајна телесна маса износи -0,5208, индиректан утицај независно променљиве на зависно, што значи, ако се просечна порођајна телесна маса повећа за 1% зависно променљиве пресепсин (трахеални аспират) ће опасти за 0,5208% и обратно. Коefицијент еластичности за пресепсин (плазма) једнак је 0,425, а то значи да, ако се пресепсин (плазма) повећа за 1% да ће се и зависно променљиве пресепсин (трахеални аспират) повећати за 0,425%. Највећи утицај- индиректни на зависно променљиву пресепсин (трахеални аспират) има променљива инфекција мајке: ако се смањи могућност за инфекцију код мајке за 1%, вредност пресепсина (из трахеалног аспирата) ће се смањити за 2,3413% и обрнуто. Висок директни утицај има и пнеумонија: уколико се повећа квалитет за пнеумонију, тј погорша клиничка слика код новорођенчета у прилог пнеумоније, вредност пресепсина (из трахеалног аспирата) ће се повећати за 1,4681%.

ДРУГА ФАЗА ИСТРАЖИВАЊА

Табела 43: Демографске карактеристике пацијената

варијабле (\bar{x})	I (n=34)	II (n=26)	Вредност теста и значајност нулте хипотезе
мушки / женски (N)	23/11	14/12	$\chi^2 = 1.187$
%	(67.6/32.4)	(53.8/46.2)	$p = 0.276$
Гестациона старост (N)	34.97±3.63	32.85±4.86	$t = -1.937$
			$p = 0.058^*$
Аpgar score (N)	6.03±2.86	5.69±2.635	$Z = -0.615$
			$P = 0.537$

I group- examined; II group- control
Source: own research made in SPSS 20.0

Табела 44: Лабораторијске вредности параметара инфламације

варијабле (\bar{x})	I (n=34)	II (n=26)	Вредност теста и значајност нулте хипотезе
Presepsin (крв) pg/ml	800.48±515.98	588.12±292.79	$t = -1.878$
			$p = 0.065$
Presepsin (трахеални аспират) pg/ml	694.58±481.39	195.01±175.52	$Z = -5.012$
			$p < 0.001^*$
инфекција мајке (да/не) %	80 / 20	54.5 / 45.5	$\chi^2 = 1.209$
			$p = 0.271$
RVP %	94.1/ 5.9	88.5/ 11.5	$\chi^2 = 0.617$
<24h/ >24h			$p = 0.432$

ПТМ	2626.76±1011.36	2071.00±965.62	t = -2.150
(\bar{x} , grams)			p = 0.036*

I group- examined; II group- control
RVP-lat.ruptura velamentorum praetemporaria; ПТМ-порођајна телесна маса
Source: own research made in SPSS 20.0

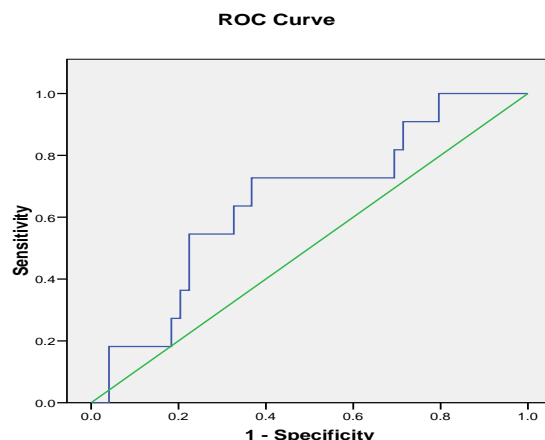
4.5. Специфичност, сензитивност и ROC-крива

У овом делу дисертације одређена је ROC крива за променљиве пресепсин (из плазме) и пресепсин (из трахеналног аспирата).

4.5.1. ROC крива за променљиву пресепсин (из плазме)

ROC крива, слика бр 1, је одређена за променљиву пресепсин (из плазме) у односу на променљиву новорођена деца која припадају испитиваном узорку (1) или новорођена деца која припадају контролном узорку (0).

Слика 1: ROC крива за променљиву пресепсин (из плазме)



Нулта претпоставка, у овом случају, је да је област испод криве једнака 50% целокупне области, а алтернативна претпоставка је да је област испод криве већа од 50%. Пошто је сигнификантност у III колони табеле $p=0,115 > \alpha=0,05$, то се прихвата нулта претпоставка да је област испод криве једнака 50%. Вредност области је 0,653, што значи да ће новорођена деца из примарног узорка имати 65,3% веће шансе да имају већу вредност пресепсина (из плазме).

Табела 45: Резултат теста за променљиву пресепсин (из плазме)

Area	Std. Error(a)	асимптотска сигнификантност	асимптотски 95% интервал поверења	
			доња граница	горња граница
I	II	III	IV	V
,653	,089	,115	,479	,827

*a Under the nonparametric assumption; b Null hypothesis: true area = 0.5
Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0*

На основу података за вредности сензитивност и специфичности одређена је оптимална вредност њиховог односа (*cut off*). У табели 46 приказане су вредности три реда испод и изнад оптималног односа између сензитивности и специфичности. Максимална вредност је њихов оптимални однос, *cut off*, (болдирана вредност у IV колони) и износи 0,46011.

Вредност пресепсина (из плазме) је 703pg/ml; сензитивност је 0,727273, а специфичност је 0,632653. То значи да вредности пресепсина (из плазме) дају 72,7273% тачних позитивних резултата (припадност примарном узорку) и 63,2653% тачних негативних резултата (припадност контролном узорку), па пресепсин (из плазме) може бити једна од променљивих за разликовање новорођене деце са ризиком за неонаталну инфекцију од остале новорођене деце у популацији.

Табела 46 пресепсин (из плазме), сензитивност, специфичност и cut off

пресепсин (из плазме)	сензитивност	специфичност	оптимални однос између сензитивности и специфичности
I	II	III	IV
-----	-----	-----	-----
666,5	0,727273	0,428571	0,415584
674,5	0,727273	0,408163	0,430427
689	0,727273	0,387755	0,445269
703	0,727273	0,367347	0,460111
705,5	0,636364	0,367347	0,402597
715	0,636364	0,346939	0,415584
726	0,636364	0,326531	0,428571
----	---	---	----

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

4.5.2. ROC крива за променљива пресепсин у трахеалном аспиратору

ROC крива, слика бр 2 је одређена за променљиву пресепсин (из трахеалног аспирата) у односу на променљиву новорођена деца која припадају испитиваном узорку (1) или новорођена деца која припадају контролном узорку (0).

Табела 47: Резултат теста за променљиву пресепсин (из трахеалног аспирата)

Area	Std. Error(a)	асимптотска сигнификантност	асимптотски 95% интервал поверења	
			доња граница	горња граница
I	II	III	IV	V
,566	,122	,498	,327	,805

a Under the nonparametric assumption; b Null hypothesis: true area = 0.5
 Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

Пошто је сигнификантност у III колони табеле $p=0,498 > \alpha=0,05$, то се прихвата нулта претпоставка да је област испод криви једнака 50%. Вредност области је 0,566, што значи да ће новорођена деца из испитиване групе имати 56,6% веће шансе да има вишу вредност пресепсина (из трахеалног аспирата).

Табела 48: пресепсин (из трахеалног аспирата), сензитивност, специфичност и cut off

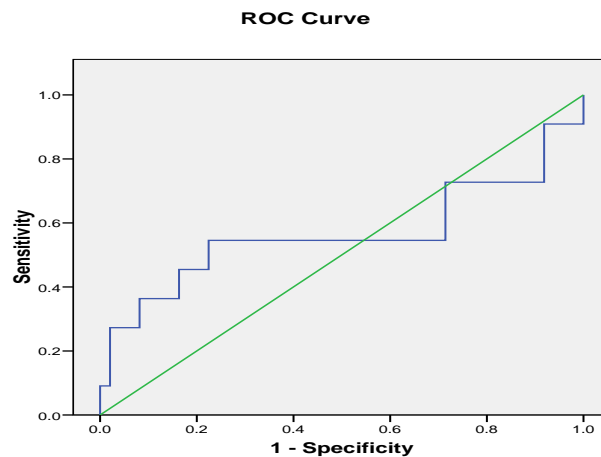
Пресепсин (из трахеалног аспирата)	сензитивност	специфичност	Оптимални однос између сензитивности и специфичности
I	II	III	IV
-----	-----	-----	-----
511	0,545455	0,714286	0,38961
521	0,545455	0,734694	0,400742
528	0,545455	0,755102	0,411874
582	0,545455	0,77551	0,423006
666	0,454545	0,77551	0,352505
728,5	0,454545	0,795918	0,361781
768,5	0,454545	0,816327	0,371058
----	---	---	----

Извор: Самостално истраживање кандидата; прорачун у СПСС-у 20.0

На основу података за вредности сензитивност и специфичности одређена је оптимална вредност њиховог односа (*cut off*). У табели 48 приказане су три реда вредности испод и изнад оптималног односа између сензитивности и специфичности. Максимална вредност је њихов оптимални однос (болдирана вредност у IV колони) и износи 0,423006. Вредност пресепсина је 582 pg/ml; сензитивност је 0,545455, а специфичност је 0,77551. То значи да

вредности пресепсина у трахеалном аспиратору дају 54,5455% тачних позитивних резултата (припадност испитиваном узорку) и 77,551% тачних негативних резултата (припадност контролном узорку), па пресепсин (из трахелног аспирата) може бити једна од променљивих за разликовање новорођене деце са ризиком за неонаталну инфекцију од остале новорођене деце у популацији. Под инфекцијом за потребе овог истраживања подразумевали смо пнеумонију 11 пацијената (са сва 3 критеријума), сепса (1 пацијент), остали пацијенти 18 (са 2 од 3 критеријума за пнеумонију).

Слика 2: ROC крива за променљиву персептин (из трахелног аспирата)



5.ДИСКУСИЈА

У нашој студији "случај-контрола" испитивали смо могућност примене пресепсина (из трахеалног аспирата) код интубиране новорођене деце, хоспитализоване у ОИИИ-у. Према досадашњим сазнањима из литературе, ово је прва студија која је испитивала могућност

коришћења овако добијеног пресепсина, као маркера системске неонаталне инфекције али и пнеумоније. Испитивана група је пажљиво креирана, тако да пацијенти имају велике шансе за системском неонаталном инфекцијом. Поред перинаталних фактора ризика, та новорођена деца су била интубирана у првом дану хоспитализације. Упркос посебних критеријума, свега 9% новорођенчади је имало позитивну хемокултуру. Са високим запаљенским параметима удруженим са знацима SIRS-а, било је њих 27%.

Обзиром да је неонатална сепса тешко, а у исто време клинички слично стање бројним другим стањима, стално се намеће потреба за изналажењем поузданих маркера за разликовање инфективних од не-инфективних пацијената. Иако хемокултура представља златни стандард у постављању дијагнозе сепсе, она је још увек спора (7-10 дана) и ограничена лажно негативним резултатима. Употреба CRP-а је отежана физиолошким повећањем од 3 дана, што резултира мањом осетљивошћу за откривање ране сепсе. Приказана је умерена дијагностичка тачност других протеина акутне фазе (серумски амилоид А, PCT...). CD64 експримиран на гранулоцитима, налази се већ 1 до 6 сати након инфекције. Његова серијска мерења могу бити добар водич за антибиотску терапију (63).

Како до сада није спроведено ни једно слично истраживање, везано за одређивање вредности пресепсина у трахеалном аспирату, креирали смо сопствену студију. У одсуству сличних студија, ослањали смо се на слична истраживања везана за одређивање вредности пресепсина из крви, али и из других средина. Stubljар и сарадници истраживали су улогу пресепсина добијеног из цереброспиналне течности код деце оболеле од менингитиса и вентрикулитиса. Након завршеног истраживања закључили су да се тако

добијене вредности у комбинацији са до сада већ познатим биохемијским анализама, могу уврстити у рутинске дијагностичке методе (63).

У експерименталној студији на мишјем моделу, тек незнатан пораст вредности пресепсина добијеног из серума, забележен је код оболелих од интрацеребралних инфекција. Насупрот овоме, исти аутори наводе значајно више концентрације пресепсина из цереброспиналне течности код оболелих у истој студији (64). До сличних резултата дошли су Lin и сарадници мерећи вредности пресепсина у синовијалној течности код пацијената оболелих од лајмске болести. Високе концентрације тако измереног пресепсина у поређењу са пресепсином из серума, указују на његову значајну улогу у патогенези артритиса (65). Ова и слична истраживања дала су нам идеју да осмислимо нашу студију.

Упоредо са праћењем значаја одређивања пресепсина из трахеалног аспирата у системским инфекцијама новорођенчета, сепси и SIRS-у, одређивали смо и уобичајене и до сада већ потврђене маркере, као што су пресепсин из крви, CRP и PCT.

Поједини аутори наводе да су вредности пресепсина из крви биле значајно високе код пацијената са локалном инфекцијом (721 pg/ml), сепсом (817.9 pg/ml), чак и сумљивом сепсом (1,992.9 pg/ml) у поређењу са пацијентима који нису имали инфекцију (294.2 pg/ml) као компликацију (63). Истраживања су била усмерена и на значај одређивања пресепсина за разликовање бактеријске од не- бактеријске инфекције (укључујући и системски инфламаторни одговор). У мултицентричној проспективној студији, Endo и сарадници су поредили вредности sCD14-ST са прокалцитонином, интерлеукином 6 и хемокултуром. Пресепсин се показао као супериорнији маркер у односу на конвенционалне, чак и у поређењу са хемокултуром у дијагнози сепсе (66).

Наше истраживање такође указује на више вредности PCT и пресепсина (из крви) код новорођенчади оболеле од сепсе, као и код оних са клиничким знацима SIRS-а. Такође је и пресепсин добијен из трахеалног аспирата показао више вредности код пацијената са неонаталном сепсом. Посебно истичемо високу разлику у средњим вредностима пресепсина из крви, али и из трахеалног аспирата код различитих узрочника инфекције. Заправо, више вредности су измерен у G^- у поређењу са G^+ инфекцијама. Код пацијената оболелих од неонаталне сепсе чији је узрочник *Klebsiella* средње вредности за пресепсин из крви биле су 1051pg/ml док је у трахеалном аспирату та вредност износила 1305pg/ml. Насупрот томе, у сепси чији је узрочник *Staphylococcus* вредности пресепсина су биле ниже у крви (208pg/ml) као и у трахеалном аспирату (40,3pg/ml).

Како је познато, пресепсин (CD14) има висок афинитет за LPS. Ефикасност препознавања липополисахарида захтева претходно формирање комплекса LPS-LBP. LBP приказује LPS, CD14 ко- рецептору, који је експримиран на спољној мембрани моноцита/макрофага (32, 33). Овим се пресепсин добијен из трахеалног аспирата, препоручује да буде један од маркера за брзу и рану оријентацију о врсти инфекције, пре свих G^- бактеријске инфекције. У време мултирезистентних сојева микроорганизама, то може бити од помоћи у избору адекватне терапије у првим данима лечења, тј до пристизања бактериолошког прегледа.

Насупрот овоме, уколико само постоје клинички знаци SIRS-а, пресепсин добијен из трахеалног аспирата не може се користити као поуздан маркер. На исти закључак упућује и анализа интерактивне везе пресепсина (из трахеалног аспирата)- SIRS-а приказана коефицијентом прости линеарне корелације.

Иако су вредности PCT- а биле више код новорођенчади оболеле од сепсе, није нађена статистички значајна разлика између испитиваних група. Исти закључак може бити изведен и за CRP. Како је познато, CRP и PCT могу имати високе вредности чак и после мултиорганског оштећења у присуству аутоимунских болести (64). Вредности CRP расту унутар 6 до 8 сати од почетка инфекције, са пиком у 24 сату. Највећи предиктивни значај има измерен унутар 24 до 48 сати од почетка инфекције (4). Roggi и сарадници наводе у свом истраживању, да су вредности CRP и PCT остале у базичним вредностима током првог дана инфекције (59). Како смо одређивали вредности CRP унутар првих 6 до 10 сати, оправдано је непостојање значајне разлике између испитиваних група пацијената.

Како је познато, прокалцитонин је сензитивнији маркер за рану детекцију сепсе од CRP (4, 67). Adib и сарадници наводе да PCT има значајније више вредности код новорођенчади оболеле од сепсе, чак и код оних са сумњом на сепсу у поређењу са здравим новорођенчадима (55), што је потврђено и у нашем раду. Друге студије, пак указују на његов пораст у стањима која нису везана за инфекцију као што су перинатална асфиксија, интракранијална хеморагија, пнеумоторакс чак и након реанимације. Ова стања негативно утичу на специфичност PCT-а (68), чиме би се могле објаснити високе вредности PCT-а у обе групе у одсуству статистички значајне разлике.

Гестациона старост не утиче на вредности пресепсина (из крви) код новорођене деце. Разлика између превремено рођене и деце рођене у термину је незнатна. Pungi и сарадници наводе као резултате своје студије средње вредности пресепсина код превремено рођене деце (24- 36 гестационе недеље) од 620 pg/mL (најнижа и највиша вредност: 352 and 1370 pg/ mL). Код новорођенчади рођене у термину средња вредност је била 603,5 pg/ mL (најнижа и највиша вредност: 315 and 1178 pg/mL pg/ mL) (60). Musar и

сарадници наводе вредности за 26 новорођенчади, од 26 до 36 ГС, $643.1 \pm 303.8 \text{ ng/L}$, са средњом вредношћу од 578 ng/L .

Наше истраживање потврђује ове податке. Истраживањем су обухваћена новорођенчад од 27 до 39 гестационе недеље. Није забележена статистички значајна разлика између испитиваних група. Такође, није забележен ни један облик утицаја гестационе старости на вредности пресепсина из плазме и из трахеланог аспирата.

Из бројних радова у литератури, примећене су значајније више вредности пресепсина код новорођене деце, без обзира на ГС, која нису у инфекцији у поређењу са одраслима. Giavarina и сарадници наводе да су референтне границе за пресепсин код 200 одраслих особа без инфламаторних болести биле $55\text{-}184 \text{ pg/mL}$, што одговара 2,5 и 97,5 перцентилима (69). Активација урођеног имуног система након порођаја као резултат преласка са нормално стерилног интраутериног окружења у свет богатог страним антигенима може делом објаснити вишим нивоима пресепсина код здравих новорођенчади у поређењу са здравим одраслим особама. Након порођаја, кожа и црева новорођенчета се брзо колонизују микробиолошком флором и ово је континуирани стимуланс урођеном имунолошком систему. Штавише, познато је да је функција TLR рецептора добро развијена као и да је присутна прекомерна реактивност ових рецептора код новорођенчади. Levi и сарадници показали су да предтерминска и терминска новорођена деца изражавају значајно више нивое TLR4 на моноцитима периферне крви и на почетку и након стимулације LPS, у поређењу са одраслима. У истој студији, они су такође приметили значајно већу експресију CD14 на почетном нивоу и након стимулације LPS у целом новорођеначком периоду у поређењу са одраслима (16). Код наших испитаника у

здовој групу, такође су забележене више вредности у односу на адултну популацију; 681,494 за пресепсин из плазме и 429,393 за пресепсин (из трахеалног аспирата).

Pugni и сарадници истраживали су ефекат антенаталних и перинаталних варијабли на вредности пресепсина, обзиром на то да биомаркери као што су CRP и PCT могу бити повишени у првим данима живота или у неинфективним условима. Није примећена никаква корелација између нивоа пресепсина и постнаталног узраста, као ни значајне разлике код предодређених новорођенчади за неонаталну инфекцију у различитим гестацијским узрастима, за разлику од CRP-а и PCT-а. Ниједна од поменутих варијабли није значајније утицала на ниво пресепсина у присуству клиничких знакова сепсе. Познато је да повишени ниво CRP-а, најчешће коришћеног маркера сепсе у ОИИИ-у, није неопходан дијагностички маркер за сепсу, јер се његова повећања могу појавити и због физиолошког пораста након порођаја или неинвазивних стања, као што је мајчина фебрилност током порођаја, PROM, фетални поремећај, перинатална асфиксија, аспирација меконијума, синдром респираторног дистреса и давање сурфактанта (60). Осим тога, поједини аутори примећују да су код новорођенчади пренатално изложене стероидима повећане концентрације CRP-а (70). Како већина варијабли које често утичу на вредности CRP и PCT не утичу на ниво пресепсина, аутори сматрају да пресепсин може бити ефикасан маркер за сепсу (60).

Тиме би се могли објаснити и резултати наше студије. Наиме, статистички значајна веза (корелација) добијена је између пресепсина (из плазме) и следећих параметра: порођај завршен природним путем, промењена структура плодове воде (другачија од бистре), високих леукоцита, високих вредности CRP-а и PCT-а, као и вредности пресепсина добијеног из трахеалног аспирата. Степен измењене структуре плодове воде (млечна,

зелена, крвава,...) за само 1%, условиће пораст вредности пресепсина (из плазме) за 1,1%, док ће пораст CRP-а за 1% условити пораст његове вредности за само 0,04%.

Вишеструки коефицијент корелације потврдио је и адитивно дејство поменутих маркера на вредности пресепсина (из плазме). Највећи појединачни утицај на вредности пресепсина (из плазме) има врста порођаја. Она и одређује 9% његове вредности. Вредности пресепсина (из плазме) биле су више код новорођенчади рођене природним путем. Измена структуре плодове воде има утицај око 12% на вредност пресепсина (из плазме). Од свих поменутих варијабли, CRP има најнижи утицај, свега 7,3%. Утицај PCT-а је нешто виши, 10%.

Системско погоршање које укључује бројне органске системе може да буде узроковано и неонаталном пнеумонијом. У поређењу са старијом децом, новорођенчад показују мање локализованих знакова плућне инфекције. Чак и када се сумња на пнеумонију, техничке баријере везане за узорковање аспирата из дисајних путева код новорођене деце, могу онемогућити коначну идентификацију етиолошког узрочника (9). Неинфективне респираторне компликације које су присутне код превремено рођене деце и погоршавају пнеумонију, могу утицати на целокупан клинички утисак (71). Неонатална пнеумонија је значајан глобални здравствени терет који је несразмерно присутнији у земљама у развоју (9).

Конгенитално настала пнеумонија резултат су улазне инфекције преко хориоамнионских мембрана или хематогено. У раном неонаталном периоду, развијају се у првих седам дана живота и резултат су изложености перинаталним патогенима, било интраутерусно или при проласку кроз инфициран порођајни канал. Касне пнеумоније, настају после 7 дана.

Најчешће су повезане са механичком вентилацијом, а узроковане су околним или нозокомијалним патогенима (9).

Као и за системске инфекције, новорођенче има ограничени капацитет за одбрану од респираторних патогена, посебно превремено рођена деца и деца са интраутерусним застојем у расту. Основни имунитет у овом периоду је углавном заснован на почетним количинама мајчиног IgG (9). Адаптивни механизми подразумевају антигенску експозицију и молекуларно пречишћавање током детињства, како би се успоставила јака заштита. Релативна слабост резидуалних алвеоларних макрофага, у комбинацији са оштећењем мукоцилијарног клиренса, омогућава успостављање ране колонизације потенцијалним патогеном (72).

Недостатак сурфактанта услед превременог рођења повезан је са повећаним растом *GBS* и погоршањем пнеумоније узроковане *E.coli*, на животињском моделу. Такође постоје докази да плућна хеморагија, едем плућа, пнеумонија и ателектаза, ослобађају инфламаторне медијаторе и протеине плазме, који оштећују пнеумоците типа II и инактивирају сурфактант. Ове болести могу довести до инактивације или секундарног недостатка сурфактанта, што може бити непризнати узрок респираторне декомпензације након иницијалног опоравка од RDS код ове популације (72). Показано је да терапијска примена сурфактанта, побољшава оксигенацију код пацијената са пнеумонијом изазваном *GBS* (9).

Новорођенчади показују вишеструке облике дисфункције неутрофила. На основу података од > 30.000 мерења код здраве новорођенчади, њих око 2% терминске и 5% превремено рођене имају неутропенију (апсолутни број неутрофила: <1000/ μ L) као базичне вредности. Новорођенчад такође показују успорено ослобађање неутрофила из коштане сржи као

одговор на инфекцију (9) и дефекте у хемотакси неутрофила на места упале (73). Посебно су погођени неутрофили добијени од превремено рођене деце. Код терминске новорођенчади нема разлике у хемотакси у односу на одрасле.

И у нашем истраживању неутрофили се нису показали као поуздан маркер инфекције новорођенчета. Није забележена значајна разлика по групама. Регресиони модел утицаја није показао зависност између вредности пресепсина (из плазме и из трахеалног аспириата) и процента неутрофила.

Ефикасност одстрањивања патогена од стране регрутованих неутрофила и резидуалних фагоцита, као што су макрофаги и моноцити, зависи од опсонизације са комплементом, антитела и других неспецифичних везујућих протеина, укључујући фибронектин, CRP и манозо-везујући лектин. Нажалост, новорођенчад имају физиолошки ниже нивое многих компоненти комплемента, а недостатак специфичних антитела и додатних опсонина, ограничавају способност урођеног имунског система да успостави ефикасан одговор на пнеумонију (9).

Перинатални фактори су од посебног значаја у патогенези ране пнеумоније, настале у првих 7 дана живота. Хориоамнионитис је кључни фактор ризика за рану појаву инфекције, укључујући и пнеумонију. Упала децидуа и хориоамнионских мембрана, тј присуство добијених ендотоксина често доводи до инвазије микроба на фетоплацентну јединицу и може бити праћена снажним синдромом инфламаторног одговора на фетус (eng. *fetal inflammatory response syndrome*, FIRS) који индукује структурално ремоделовање плућа на поједностављење ћелијске структуре и повећање шансе касније за пнеумонију или хроничне болести плућа (74) (75). Идентификоване мреже цитокина и регулатора, могу објаснити изостанак фиброзе и алвеоларно/микроваскуларно

упрошћавање већи се слично бронхопулмоналној дисплазији, након интраутерусне инфламације. Отежавајући фактор представља превремено прснуће плодових овојака. Код новорођенчади из таквих трудноћа, забележена је већа инциденца (34,8%) ниског Apgar score у 5 минути, RDS, некротични ентероколитис, интракранијалне хеморагије и пнеумоније (75).

Инфекција мајке у последњем триместру показала је значајна утицај на вредност пресепсина (из трахеаног аспирата), насупротив пресепсину (добијеном из плазме). Регресиони модел указује да је 9,9% вредности пресепсина (из трахеалног аспирата) одређено присутном инфекцијом мајке у последњем триместру трудноће, које имају и највећи појединачни утицај. Коефицијент еластичности указује да се са сваким повећањем могућности за инфекцију мајке или погоршањем постојеће за 1%, повећава вредност пресепсина (из трахеалног аспирата) за 2,34%.

Током акутне интраутерине инфекције долази до пораста броја бактерија у амнионској течности, што омогућава директан контакт између патогена и феталне респираторне мукозе (9).

Урођене или рано настале пнеумоније могу проистећи из директног контакта слузокоже и заражене амнионске течности. Аспирација меконијума повећава ризик од пнеумоније, смањујући антимикуробна својства амнионске течности и служи као водич за бактеријски улазак и њихово постнатално перзистирање у плућима.

Матернална вагинална колонизација са *GBS* је кључни фактор ризика за развој *GBS* сепсе која се рано појављује, што често укључује и упалу плућа.

Аспирација респираторних секрета који садрже *GBS* ће подразумевати мали подпростор за плућну инфекцију, што брзо доводи до хематогеног ширења и еволуције до неонаталне

сепсе (9, 76). Исти пут од интрапарталне мукозне колонизације до ране упале плућа идентификована је за *Escherichia coli*, *Chlamydia trachomatis*, *Pneumococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenza*.

Фактори ризика за рану неонаталну пнеумонију укључују пре свега прематуритет и малу порођајну телесну масу, колонизацију неким патогенима, RVP >18 сати, галактоземију (повећана осетљивост на G⁻ инфекције), хориоамнионитис. Рана неонатална пнеумонија чешће се развије код дечака. Новен и сарадници наводе као најчешће узрочнике ране пнеумоније код новорођене деце *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.* *Haemophilus spp.* *Streptococcus viridans* *Klebsiella*, *Enterobacter spp.*, *Streptococcus grupe A*, *Coagulase-negative staphylococcus* (9).

У делу истраживања, везаном за неонаталну пнеумонију, посматрали смо сличне групе у вези са демографским карактеристикама које се односе на пол и Апгар скор без значајне разлике између испитиване и контролне групе. Међутим, било је скоро два пута више мушке новорођенчади са раном пнеумонијом, што је у складу са подацима из литературе (26).

Како се у литератури наводи, предтерминска новорођена деца имају већи ризик од развоја пнеумоније, сепсе, респираторног дистрес синдрома итд. (77). Подаци из нашег истраживања указују на чешћу појаву пнеумоније у испитиваној групи коју су и чинила новорођенчад рођена ближе термину, око 35 недеља гестације (78). Како разлика у гестационој доби није статистички значајно различита, али је близу 0.05 нивоа ($p= 0.058$), може се сматрати значајним фактором ризика за рану појаву пнеумоније.

Порођајна телесна маса била је значајније већа у испитиваној у односу на контролну групу ($p = 0.036$). Међутим, просечне вредности ПТМ у обе групе усклађене су са њиховим гестациским добом и могу се сматрати малом тежином на рођењу, што је потврђено као фактор ризика за рани развој инфекције (79).

Подаци о инфекцији мајке као фактору ризика за рану појаву пнеумоније новорођенчета су ипак контроверзни. Велика инциденца сепсе код новорођенчади мајки са хориоамнионитисом може се објаснити фетусном инхалацијом *in utero* или гутањем заражене амнионске течности, као и колонизацијом коже и слузокоже (4). Међутим, неки аутори сугеришу да само мали део жена са хориоамнионитисом има инфицирано новорођенче (80). Осим тога, интрапартална грозница или дијагноза клиничког хориоамнионитиса представљају мали фактор ризика за неонаталну сепсу (81). Иако преурањена руптура мембрана, присуство *GBS* у вагиналном брису и фебрилност мајке указују на пнеумонију, нисмо приметили статистички значајне податке. Међутим, не можемо их искључити као потенцијалне узроке ране упале плућа. Коефицијенти једноставне линеарне корелације показали су статистички значајну везу између пресепсина (из трахеалног аспирата) и инфекције мајке ($p = 0.314$, $p = 0.099$). С обзиром на високу статистичку значајност пресепсина (из трахеалног аспирата) у раној дијагнози ране неонаталне пнеумоније, $p < 0,001$ и њихове међусобне повезаности, сматрамо да је инфекција мајке, ипак, значајан фактор ризика, што је у складу са литературним подацима (82).

У првој фази нашег истраживања није забележена статистички значајна разлика по половима између обе групе. Скоро је исти број мушке и женске новорођене деце. Позитивни брисеви код мајке забележени су код свега 2 пацијента. Између испитиваних

група није забележена статистички значајна разлика. Појединачни утицај на вредности пресепсина (из плазме, али и из трахеалног аспирата) нису показали ни позитивни брисеви код мајке, као ни RVP >18 сати. Ипак, значајније више је било RVP >18 сати у испитиваној групи, те ова варијабла представља значајан фактор ризика за инфекцију новорођенчета.

У погледу узрочника ране инфекције, у нашој студији, из трахеалног аспирата доминирале су G⁻ бактерије и то *Klebsiella*, *Xanthomonas maltophilia*, *Pseudomonas* и *Acinetobacter*. Код свега двоје деце из трахеалног аспирата, а код једног у хемокултури изолован је *Staphylococcus* метицилин резистентан.

Међу интубираним новорођенчадима, ендотрахеални тубус представља важан резервоар за микроорганизме. Неколико студија показало је рани и прогресивни раст бактерија на спољашњим и луменским површинама неонаталних тубуса. Исти аутори наводе, да се G⁻ бактерије управо колонизују са спољашње стране ендотрахеалног тубуса, а резултат су колонизације у пределу субглотиса. Посебно забрињава податак да се већ постојеће бактерије обогаћују са патогеним сојевима као што су *Staphylococcus aureus* и разне G⁻ бактерије (83).

Након стабилизације опшег стања, новорођенчад су екстубирана, просечно у 13 дану хоспитализације. Из бриса интралуменске стране тубуса и даље су доминирале G⁻ бактерије, али је значајније више било *Staphylococcus*-а (чак 20%), што је у складу са истраживањима других аутора.

Пацијенти са вентилацијом условљеном пнеумонијом, показују високу корелацију између микроорганизама који колонизују ендотрахеални тубус и микроорганизама нађених у трахеалном аспирату, што указује на то да су ендотрахеални тубуси вероватни извор

инфекције. Штавише, вештачка површина ендотрахеалног тубуса и сложени тродимензионални биофилм у којем колонизатори тубуса преживљавају, повећавају отпорност бактерије на антибиотску терапију (9). Коначно, ендотрахеални тубус представља страног тело које отежава мукоцилијарни клиренс и спречава ефикасно кашљање, што додатно ограничава чишћење доњих дисајних путева (84).

У ситуацији када је механичка вентилација неодложна и неопходна мера преживљавања, од користи је рано препознавање врсте инфекције због лечења новорођенчади, али и због скраћивања боравка на механичкој вентилацији.

Значајна појединачна веза, али и адитивно дејство, примећено је између вредности пресепсина из трахеалног аспирата и пресепсина (из плазме), инфекције мајке у последњем триместру као и настанка пнеумоније. На његове вредности нема утицај CRP, PCT, укупан број леукоцита, неутрофила, чак ни развој респираторног дистрес синдрома. Највећи појединачни утицај на вредности пресепсина (из трахеалног аспирата) има пнеумонија. Она и одређује 12,5% његове вредности. Регресиони модел анализе указује и на значајну повезаност пресепсина (из плазме) и пресепсина (из трахеалног аспирата). Наиме, око 10% вредности на оба начина добијеног пресепсина, одређују један другог. Коефицијент еластичности указује, да се при сваком погоршању симптома (за 1%) у прилог развоја пнеумоније или погоршања већ настале, вредност пресепсина (из трахеалног аспирата) повећати за 1,46%. То може бити олакшавајући податак, када постоји дилема у свакодневном клиничком раду.

Грам негативни организми били су најчешћи узрок неонаталне сепсе, а били су резистентни на антибиотике прве линије (*Ampicilin*, аминогликозиди и цефалоспорини). Новорођенчад са позитивном хемокултуром, тј оболела од неонаталне сепсе имају лошији

исход у односу на здраву новорођенчад. Patel и сарадници наводе да су G⁻ бактерије доминантна флора ране и касне неонаталне сепсе, у скоро ½ пацијената (*Klebsiella* 42,4%). Висока резистенција показана је за бета лактамске антибиотике, а у 1/5 случајева *Enterococcus* је био резистентан на Vancomycin. Скоро 1/3 пацијената је имала изолован *Staphylococcus* метицилин резистентан. Као најделотворније комбинације прве линије антибиотика предложене су Amikacin са Levofloksacin-ом и Amikacin са Piperacilinom-Tazobactam (85).

Слични резултати добијени су у нашој студији, у погледу бактериолошке структуре. У 64% новорођенчади са вредностима пресепсина из трахеалног аспирата изнад граничне вредности, развила се пнеумонија, а G⁻ флора (41%) је доминирала (*Klebsiella* 17%). Код двоје новорођенчади изолован је *Staphylococcus* метицилин резистентан, сензитиван на Vancomycin. Висока резистенција утврђена је за Ampicilin који се користи као иницијална терапија. Код 94% новорођенчади која су иницијално добијала цефалоспорин у комбинацији са аминогликозидом, клиничко погоршање је у 3 дану хоспитализације наступило је у око ¼. Након увођења карбапенема, дошло је до клиничког опоравка.

Како се пресепсин показао као поуздан маркер неонаталне сепсе, новија истраживања усмерена су на одређивање *cutt off* вредности пресепсин (из крви). Торсуоглу и сарадници, као и бројни други аутори, наводе значајније више вредности пресепсина у групи новорођенчади оболеле од касне неонаталне сепсе. Подручје испод ROC криве за пресепсин износио је 0,864. Гранична вредност пресепсина одређена је за 800,5 pg/mL, са осетљивошћу од 67% и специфичношћу од 100%. Нису доказана ефикасност пресепсина за откривање озбиљности болести или прогнозе (58). Други аутори наводе као граничну, вредност пресепсина из крви 885 ng/L, са 94% сензитивности и 100% специфичности (59).

Граничне вредности пресепсина из крви у првом дану болести пре укључивања иницијалне терапије, су нешто ниже. За дијагнозу ране неонаталне сепсе, ROC кривом, одређене су граничне вредности на 539 pg/mL. Добијена сензитивност је 80%, а осетљивост 75% (86).

У нашем истраживању добијене су сличне граничне вредности пресепсина (из плазме) од 703pg/ml, са сензитивношћу од 72,72% и осетљивошћу од 63,26%. Гранична вредност пресепсина (добијеног из трахеалног аспирата) је 582 pg/ml, са сензитивношћу од 54,54% и осетљивошћу од 77,55%.

Нижа сензитивност граничне вредности пресепсина, може се објаснити ширим критеријумима за испитиване групе, у поређењу са подацима из литературе где су обухваћена само новорођена деца оболела од неонаталне сепсе.

6.ЗАКЉУЧАК

1. Пресепсин (плазма/трахеални аспирата) може бити један од маркера за разликовање новорођене деце са ризиком за неонаталну инфекцију од здраве новорођенчади у популацији.
2. У присуству сва три знака за неонаталну пнеумонију, пресепсин (из трахеалног аспирата) може бити поуздан помоћни маркер.
3. Код новорођенчади чије су вредности пресепсина изнад одређене граничне вредности, уз праћење клиничког статуса, размотрити рано увођење карбапенема у терапију. Иницијалну терапију променити у карбапенем са аминогликозидом до пристизања бактериологије.
4. При сваком погоршању симптома (за 1%) у прилог развоја пнеумоније или погоршања већ настале, вредност пресепсина (из трахеалног аспирата) повећати за

1,46%. То може бити олакшавајући податак, када постоји дилема у свакодневном клиничком раду.

5. Уколико мајка има инфекцију у последњем триместру или наступи погоршањем постојеће за 1%, може се очекивати код новорођеног детета пораст вредности пресепсина (из трахеалног аспирата) за 2,34%.
6. Неутрофили нису поуздан маркер инфекције новорођенчета
7. CRP и PCT, нису поуздани маркери ране неонаталне инфекције (ни сепсе, ни пнеумоније).

7.ЛИТЕРАТУРА

1. Николић Т, Јанковић Б. Бактеријска неонатална сепса и менингитис. In Водич за основно и специјализовано збрињавање новорођенчета. Edit Јанковић. Институт за здравствену заштиту мајке и детета. 2011; 185-92.
2. Ivanović J, Vasiljević S. Uloga imunskog sistema novorođenčeta u patogenezi bronhopulmonalne displazije. *Timočki medicinski glasnik*. 2011; 36(1):43-7.
3. Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:F211-9.
4. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, Davies HD. Early-onset neonatal sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27(1):21-47.
5. Hodge S, Hodge G, Flower R. Surface activation markers of T lymphocytes: role oin the detection of infection in neonates. *Clin Exp Immunol*. 1998; 113:33-8.

6. Mussap M, Noto A, Cibecchini F, Fanos V. The importance of biomarkers in neonatology. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2013; 18(1):56-64.
7. Polin R. Committee on fetus and newborn. Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. *Pediatrics.* 2012; 129(5):1006-15.
8. Bersani I, Auriti C, Ronchietti MP, Prencipe G, Gayyolo D, Dotta A. Use of early biomarkers in neonatal brain damage and sepsis: state of the art and future perspectives. *BioMed Research International.* 2015;2015:253520.
9. Hooven TA, Polin RA. Pneumonia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2017; 22(4):206-213.
10. Garland JS, Alex CP, Johnston N, Yan JC, Werlin SL. Association between tracheal pepsin, a reliable marker of gastric aspiration, and head of bed elevation among ventilated neonates. *J Neonatal Perinatal Med.* 2014; 7(3):185-92.
11. Chang BA, Huang Q, Quan J, et al. Early inflammation in the absence of overt infection in preterm neonates exposed to intensive care. *Cytokine.* 2011; 56(3):621-6.
12. Ng PC, Li K, Leung TF, et al. Early prediction of sepsis-induced disseminated intracascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clin Chem.* 2006; 52(6):1181-9.
13. Schelonka RL, Maheshwari A, Carlo WA, et al. T cell cytokines and the risk of blood stream infection in extremely low birth weight infants. *Cytokine.* 2011; 53(2):249-55.

14. Hotoura E, Giapros V, Kostoula A, Spirou P, Andronikou S. Tracking changes of lymphocyte subsets and pre-inflammatory mediators in full-term neonates with suspected sepsis or documented infection. *Scand J Immunol.* 2011; (73):250-5.
15. Wynn JL, Levy O. Role of innate host defenses in susceptibility to early onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* 2010; 37(2):307-37.
16. Levy O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(5):379-90.
17. Viemann D, Dubbel G, Schleifenbaum S, Harms E, Sorg C, Roth J. Expression of toll-like receptors in neonatal sepsis. *Pediatr Res.* 2005; 58(4):654-9.
18. Lafferty EI, Qureshi ST, Schnare M. The role of toll-like receptors in acute and chronic lung inflammation. *J Inflamm* 2010; 7:57.
19. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol.* 2014; 5:461.
20. Kingsmore SF, Kennedy N, Halliday HL, Van Velkinburgh JC, Zhong S, Gabriel V et al. Identification of diagnostic biomarkers for infection in premature neonates. *Mol Cell Proteomics.* 2008; 7(10):1863-75.
21. Osterholt HC, Lundeland B, Sonerud T, Saugstad OD, Nakstad B. The impact of hyaluronan on monocyte Toll-like receptor expression in term infant cord blood. *Acta Paediatr.* 2012; 101(7):706-13.
22. Manoura A, Gourgiotis D, Galanakis E, Matalliotakis E, Hatzidaki E, Korakaki E et al. Circulating concentrations of α - and β -chemokines in neonatal sepsis. *Int J Infect Dis.* 2010; 14(9):e806-9.

23. Ambalavanan N, Carlo WA, D'Angio CT, et al. Cytokines associated with bronchopulmonary dysplasia or death in extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009; 123(4):1132-41.
24. Abbas AK, Lichtman AH. Osnovna imunologija. Treće izdanje. Beograd: Datastatus. 2008.
25. Aygun AD, Citak Kurt AN, Godekmerdan A, et al. Neonates with culture proven sepsis have lower amounts and percentage of CD45RA+ T cells. *Inflammation*. 2008; 31(4):222-6.
26. Morsy AA, Elshall LY, Zaher MM, Abd Elsalam M, Nassr AE. CD64 cell surface expression on neutrophils for diagnosis of neonatal sepsis. *Egypt J Immunol*. 2008; 15(2):53-61.
27. Godula-Stuglik U, Mazur B, Mikusz G, Torbus T, Tomanek L. Lymphocyte subpopulations in full-term septic neonates. *Pediatr Int*. 1999; 41(5):500-5.
28. Zeitoun AA, Gad SS, Attia FM, Abu Maziad AS, Bell EF. Evaluation of neutrophilic CD64, interleukin 10 and procalcitonin as diagnostic markers of early- and late-onset neonatal sepsis. *Scand J Infect Dis*. 2010; 42(4):299-305.
29. Wu J, Hu L, Zhang G, Wu F, He T. Accuracy of Presepsin in Sepsis Diagnosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133057.
30. Paul WE. Bridging innate and adaptive immunity. *Cell*. 2011; 147(6):1212-5.
31. Kelley SL, Lukk T, Nair SK, Tapping RI. The crystal structure of human soluble CD14 reveals a bent solenoid with a hydrophobic amino-terminal pocket. *J Immunol*. 2013; 190(3): 1304–11.

32. Maurice1M, Nafea D, El Sawy M, Soelam R, Youssef S. Usefulness of Presepsin (Soluble CD14 Subtype) as a Diagnostic Marker of Sepsis in Egyptian Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Am J Mol Biol.* 2014; 4:169-76.
33. Faix JD. Presepsin - The new kid on the sepsis block. *Clin Biochem.* 2014; 47(7-8):503-4.
34. Zou Q, Wen W, Zhang X. Presepsin as a novel sepsis biomarker. *World J Emerg Med.* 2014; 5(1):16-9.
35. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2013; 50(1):23–36.
36. Dessi A, Corsello G, Stronati M, et al. New diagnostic possibilities in systemic neonatal infections: metabolomics. *Early Hum Dev.* 2014; 90 Suppl 1:S19-21.
37. Liu B, Chen Y.X., Yin Q, Zhao Y.Z., Li C.S. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Critical Care.* 2013; 17:R244.
38. Ishikura H, Nishida T, Murai A, et al. New diagnostic strategy for sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: a prospective single-center observational study. *Crit Care.* 2014; 18:R19.
39. Marcos V, Latzin P, Hector A, et al. Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases. *Respir Res.* 2010; 11:32.
40. Terrin G, Passariello A, Manguso F, et al. Serum calprotectin: an antimicrobial peptide as a new marker for the diagnosis of sepsis in very low birth weight newborns. *Clin Dev Immunol.* 2011;2011:291085

41. Hisamuddin E, Hisam A, Wahid S, Raza G. Validity of C- reactive protein (CRP) for diagnosis on neonatal sepsis. *Pak J Med Sci.* 2015; 31(3):527-31.
42. Chirico G, Loda C. Laboratory aid to the diagnosis and therapy of infection in the neonate. *Pediatr Rep.* 2011; 3(1): e1
43. Oguz SS, Sipahie E, Dilmen U. C- reactive protein and interleukin- 6 responses for differentiating fungal and bacterial aetiology in late- onset neonatal sepsis. *Mycoses.* 2011; 54 (3):212-6.
44. Hofer N, Zacharias E, Müller W, Resch B. An update on the use of C- reactive protein in early- onset neonatal sepsis: current insights and new tasks. *Neonatology* 2012; 102:26-36.
45. Beceiro Mosquera J, Sivera Monzo CL, Oria de Rueda Salguero O, Olivas López de Soria C, Herbozo Nory C. Usefulness of a rapid serum interleukin-6 test combined with C-reactive protein to predict sepsis in newborns with suspicion of infection. *An Pediatr (Barc).* 2009;71(6):483-8
46. Edgar JD, Gabriel V, Gallimore JR, McMillan SA, Grant J. A prospective study of the sensitivity, specificity and diagnostic performance of solubleintercellular adhesion molecule 1, highly sensitive C-reactive protein, soluble E-selectin and serum amyloid A in the diagnosis of neonatal infection. *BMC Pediatr.* 2010; 10:22.
47. Shang Y, Mu L, Guo X, Li Y, Wang L, Yang W et al. Clinical significance of interleukin- 6, tumor necrosis factor- and high- sensitivity C- reactive protein in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Exp Ther Med.* 2014; 8:1259-62.

48. Benitz WE. Adjunct laboratory tests in diagnosis of early- onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* 2010; 37(2):421-38.
49. Abdullahi A, Shoar S, Nayyeri F, Shariat M. Diagnostic value of simultaneous measurement of Procalcitonin, Interleukin 6 and hs-CRP in prediction of early onset neonatal sepsis. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2012; 4(1): e2012028.
50. Boonkasidecha S, Panburana J, Chansakulporn S, Benjasuwantep B, Kongsomboon K. An optimal cut-off point of serum C-reactive protein in prediction of neonatal sepsis. *J Med Assoc Thai.* 2013; 96 Suppl. 1:S65-70.
51. Miquel D, Prieto B, Costa M, Coto D, Alvarez FV. Cord blood plasma reference intervals for potential sepsis markers: pro-adrenomedullin, pro-endothelin, and pro-atrial natriuretic peptide. *Clin Biochem.* 2011; 44(4):337-41.
52. Oncel MY, Dilmen U, Erdeve O, Ozdemir R, Calisici E, Yurttutan S, et al. Proadrenomedullin as a prognostic marker in neonatal sepsis. *Pediatr Res.* 2012; 72(5):507-12.
53. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem.* 2005; 51(10):1823-9.
54. Sucilathangam G, Amuthavalli K, Velvizihi G, Ashihabegum MA, Jeyamurugant T, Palaniappan N. Early Diagnostic Markers for Neonatal Sepsis: Comparing Procalcitonin (PCT) and C-Reactive Protein (CRP). *J Clin Diagn Res.* 2011; 6(4):627-31.

55. Adib M, Bakhshiani Z, Navaei F, Saheb Fosoul F, Fouladi S, Kazemzadeh H. Procalcitonin: a reliable marker for the diagnosis of neonatal sepsis. *Iran J Basic Med Sci.* 2012;15(2):777-82.
56. Carrol ED, Thomson AP, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents.* 2002; 20(1):1-9.
57. Montaldo P, Rosso R, Santantonio A, Chello G, Giliberti P. Presepsin for the detection of early-onset sepsis in preterm newborns. *Pediatr Res.* 2017; 81(2):329-34.
58. Topcuoglu S, Arslanbuga C, Gursoy T, et al. Role of presepsin in the diagnosis of late-onset neonatal sepsis in preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29(11):1834-9.
59. Poggi C, Bianconi T, Gozzini E, Generoso M, Dani C. Presepsin for the detection of late-onset sepsis in preterm newborns. *Pediatrics.* 2015; 135(1):68-75.
60. Pugin L, Pietrasanta C, Milani S, et al. Presepsin (Soluble CD14 Subtype): Reference Ranges of a New Sepsis Marker in Term and Preterm Neonates. *PLoS One.* 2015; 10(12).
61. Jovetić S, Milanović M. Klasični regresioni dvodimenzionalni model. In: Jovetić S (ed). Klasični višestruki linearni regresioni model. 1. izdanje. G.Milanovac IP“ Dositelj”. 2007; 515-46.
62. Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Okamura Y, Endo S. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Chemother.* 2011;17(6):764-9

63. Stubljär D, Kopitar AN, Groseelj-Grenc M, Suhadolc K, Fabjan T, Skvarc M. Diagnostic Accuracy of Presepsin (sCD14-ST) for Prediction of Bacterial Infection in Cerebrospinal Fluid Samples from Children with Suspected Bacterial Meningitis or Ventriculitis. *J Clin Microbiol.* 2015; 53(4):1239-44.
64. Sansano S, Fearn C, Ulevitch R, Zimmerli W, Landmann R. The origin and function of soluble CD14 in experimental bacterial meningitis. *J Immunol.* 1999; 162:4762–72.
65. Lin B, Noring R, Steere AC, Klempner MS, Hu LT. Soluble CD14 levels in the serum, synovial fluid, and cerebrospinal fluid of patients with various stages of Lyme disease. *J Infect Dis.* 2000; 181(3):1185-8.
66. Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, et al. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in a multicenter prospective study. *J Infect Chemother.* 2012; 18(6):891-7.
67. Wellinghausen N, Kochem AJ, Disqué C, et al. Diagnosis of bacteremia in whole-blood samples by use of a commercial universal 16S rRNA gene-based PCR and sequence analysis. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(9):2759-65.
68. Bissinger R, Carlson C, Hulsey T, Eicher D. Secondary surfactant deficiency in neonates. *J Perinatol.* 2004; 24(10):663-6.
69. Giavarina D, Carta M. Determination of reference interval for presepsin, an early marker for sepsis. *Biochem Med (Zagreb).* 2015; 25(1):64-8.
70. Chiesa C, Natale F, Pascone R, et al. C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period. *Clin Chim Acta.* 2011.412(11-12):1053-9.

71. Apisarnthanarak A, Holzmann-Pazgal G, Hamvas A, Olsen MA, Fraser VJ. Ventilator-associated pneumonia in extremely preterm neonates in a neonatal intensive care unit: characteristics, risk factors, and outcomes. *Pediatrics*. 2003; 112(6 Pt. 1):1283-9.
72. Saini Y, Wilkinson KJ, Terrell KA, et al. Neonatal Pulmonary Macrophage Depletion Coupled to Defective Mucus Clearance Increases Susceptibility to Pneumonia and Alters Pulmonary Immune Responses. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2016; 54(2):210-21
73. Birle A, Nebe CT, Hill S, Hartmann K, Poeschl J, Koch L. Neutrophil chemotaxis in cord blood of term and preterm neonates is reduced in preterm neonates and influenced by the mode of delivery and anaesthesia. *PLoS One*. 2015.10(4):e0120341.
74. Kramer BW. Antenatal inflammation and lung injury: prenatal origin of neonatal disease. *J Perinatol*. 2008; 28 Suppl 1:S21-7.
75. Aziz N, Cheng YW, Caughey AB. Neonatal outcomes in the setting of preterm premature rupture of membranes complicated by chorioamnionitis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009; 22(9):780-4.
76. Lamagni TL, Keshishian C, Efstratiou A, et al. Emerging trends in the epidemiology of invasive group B streptococcal disease in England and Wales, 1991-2010. *Clin Infect Dis*. 2013; 57(5):682-8.
77. Dong Y, Yu JL. An overview of morbidity, mortality and long-term outcome of late preterm birth. *World J Pediatr*. 2011;7(3):199-204.

78. ACOG Committee on Obstetric Practice; ACOG Committee on Gynecologic Practice; ACOG Committee on Genetics. ACOG Committee opinion. No 324. Perinatal risks associated with assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol.* 2005. 106(5):1143-6.
79. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med.* 2002 Jul 25;347(4):240-7.
80. Wortham JM, Hansen NI, Schrag SJ et al. Chorioamnionitis and Culture-Confirmed, Early-Onset Neonatal Infections. *Pediatrics.* 2016 ;137(1).
81. Towers CV, Yates A, Zite N et al. Incidence of fever in labor and risk of neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 2017;216:596.e1-5.
82. Gallacher DJ, Hart K, Kotecha S. Common respiratory conditions of the newborn. *Breathe (Sheff).* 2016 Mar; 12(1): 30-42
83. Zur KB, Mandell DL, Gordon RE, Holzman I, Rothschild MA. Electron microscopic analysis of biofilm on endotracheal tubes removed from intubated neonates. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004; 130(4):407-14.
84. Konrad F, Schreiber T, Brecht-Kraus D, Georgieff M. Mucociliary transport in ICU patients. *Chest.* 1994; 105(1):237-41.
85. Patel D, Nimbalkar A, Sethi A, Kungwani A, Nimbalkar S. Blood culture isolates in neonatal sepsis and their sensitivity in Anand District of India. *Indian J Pediatr.* 2014; 81(8):785-90.
86. Ozdemir AA, Elgormus Y. Diagnostic Value of Presepsin in Detection of Early-Onset Neonatal Sepsis. *Am J Perinatol.* 2017; 34(6):550-6.

