

Infecção Neonatal – Importância do Conhecimento da Epidemiologia Local

ANDRÉ GRAÇA¹ CARLOS MONIZ¹ LUÍS LITO² MARIA JOSÉ SALGADO² MARIA OFÉLIA GUERREIRO¹

¹ Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Maria

² Serviço de Patologia Clínica – Laboratório de Bacteriologia do Hospital de Santa Maria

Resumo

Introdução: Independentemente da idade gestacional, a infecção é uma importante causa de morbidade e mortalidade no recém-nascido. O êxito da antibioticoterapia empírica no recém-nascido depende não só da natureza da infecção, mas também do conhecimento actualizado da epidemiologia da respectiva unidade.

Objectivo: Conhecer a prevalência dos agentes responsáveis pela infecção dos recém-nascidos (RN) internados na Unidade de Cuidados Especiais ao Recém-Nascido (UCERN) do Hospital de Santa Maria (HSM) ao longo de um período de 5 anos (1998-2002).

Material e Métodos: Estudo retrospectivo de todos os agentes infecciosos isolados em crianças internadas na UCERN, durante o período do estudo, a partir da análise da base de dados informática do Laboratório de Microbiologia do HSM.

Resultados: Foram realizados 3168 exames culturais de produtos colhidos em crianças internadas na UCERN. A taxa de positividade do total dos exames foi de 11,1% (8% quando consideradas exclusivamente as hemoculturas). Os agentes mais frequentemente isolados foram o *Staphylococcus epidermidis*, o *Staphylococcus aureus*, a *Klebsiella pneumoniae*, a *Escherichia coli* e a *Pseudomonas aeruginosa*. Quando consideradas apenas as hemoculturas positivas, os agentes mais frequentemente isolados foram o *Staphylococcus coagulase-negativo*, a *Escherichia coli* e outras enterobacteriaceas. Na sepsis precoce predominaram a *Escherichia coli* e o *Streptococcus* do grupo B e na sepsis tardia e pós-neonatal foram mais frequentes os *Staphylococcus coagulase-negativo* e a *Klebsiella*. Nos catéteres centrais predominou o isolamento de *Staphylococcus coagulase-negativo* e nas infecções superficiais o *Staphylococcus aureus*. Os estudos de sensibilidade aos antibióticos revelaram que a política de antibioticoterapia empírica seguida na Unidade é adequada.

Conclusões: Os resultados obtidos a partir deste estudo permitiram ter não só o conhecimento da realidade epidemiológica na Unidade, mas também a confirmação de que a política de antibioticoterapia empírica seguida é adequada. A existência de dados na literatura chamando à atenção para o aumento das resistências dos

agentes envolvidos na infecção neonatal aos antibióticos habitualmente utilizados, torna imprescindível a realização de revisões epidemiológicas periódicas em todas as unidades de Neonatologia.

Palavras-Chave: Recém-nascido; Infecção; Epidemiologia; Sensibilidade aos antibióticos.

Summary

Neonatal Infection – the Importance of Local Epidemiological Data

Introduction: Neonatal infection is an important cause of morbidity and mortality in the newborn infant, which is independent of its gestational age. The success of empirical antibiotic policy when dealing with neonatal infection depends on the type of infection, but also on the knowledge of recent local epidemiological data.

Aim: The purpose of this study was to know the relevant epidemiological data from infections on newborns admitted to the Newborn Intensive and Special Care Unit of the Hospital de Santa Maria in Lisbon during the 5-year period of 1998-2002.

Methods: Retrospective collection of all relevant data stored in the Microbiology Department database relative to isolates in biological specimens taken from newborn infants admitted to the above-mentioned Neonatal Unit during the period of the study.

Results: During the period of this study 3168 microbiological specimens were taken from newborns admitted to the Unit. The positivity rate has been globally 11,1%, being around 8% when only blood cultures were considered. The most frequent organisms isolated were *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. When only blood cultures were considered, coagulase-negative *Staphylococcus*, *Escherichia coli* and other *Enterobacteriaceae* were the most common isolates. In early onset sepsis, the most frequent isolates were *Escherichia coli* and group B *Streptococcus*, whereas in late onset sepsis the predominant isolates were coagulase-negative *Staphylococcus* and *Klebsiella*. The most common isolates in catheter specimens were coagulase-negative *Staphylococcus*. In superficial swabs (including eye, umbilical and skin swabs), *Staphylococcus aureus* and *Enterobacteriaceae* were the most common. The analysis of antibiotic resistance studies showed that the current empirical antibiotic policy at the Neonatal Unit is adequate.

Conclusion: The results of this study show the epidemiological reality of our Neonatal Unit and confirm that the antibiotic policy has been adequate. As there has been data on the literature showing increased antibiotic resistance in what respects to neonatal infection, it seems that frequent analysis of microbiological data from each Neonatal Unit is of key importance to adequate antibiotic usage.

Correspondência: André Graça

Serviço de Pediatria, Hospital de Santa Maria

Av. Prof. Egas Moniz

1649-035 Lisboa

Correio electrónico: amgraca@netcabo.pt

Recebido – 25.11.04

Aceite para publicação – 15.12.05

Key-Words: Newborn; Infection; Epidemiology; Antibiotic; Drug Resistance

Introdução

O êxito da terapêutica da infecção neonatal passa pela instituição precoce de uma antibioticoterapia adequada. Na escolha empírica dos antibióticos é fundamental o conhecimento da epidemiologia de cada unidade, devendo esse conhecimento ser periodicamente actualizado.

Por esse motivo, considera-se importante dar a conhecer a prevalência dos agentes infecciosos mais frequentes na infecção dos recém-nascidos (RN) internados na Unidade de Cuidados Especiais ao Recém-Nascido (UCERN) do Hospital de Santa Maria. O presente estudo abrangeu um período de 5 anos (1998-2002).

Este trabalho tem como objectivo primordial fazer uma avaliação da realidade epidemiológica da UCERN ao longo de um período relativamente longo, de forma a tornar possível o seu conhecimento e evolução em relação a períodos anteriores, a adequação da política de antibioticoterapia vigente na Unidade, e, finalmente, fazer a comparação dos resultados com os de outras unidades de Neonatologia de nível III nacionais e estrangeiras.

Material e Métodos

O estudo, retrospectivo, foi realizado a partir da análise da base de dados informática do Laboratório de Microbiologia do Hospital de Santa Maria, durante o período considerado.

Foram analisadas as tabelas referentes a 3164 estudos microbiológicos (bacteriológicos e micológicos) realizados à população da UCERN durante o período do estudo (1998-2002), correspondente a aproximadamente 1500 recém-nascidos. Estes dados foram separados em subgrupos correspondentes a cada um dos produtos biológicos (sangue, liquor, urina, pontas de cateter, secreções respiratórias e produtos superficiais).

Não se procedeu a qualquer revisão de processos clínicos e foram exclusivamente considerados os exames culturais colhidos enquanto as crianças se encontravam internadas na UCERN.

Deste modo, não foram contabilizados os casos de sepsis clínica, mas apenas os casos de sepsis com agente isolado (em que existiu hemocultura positiva). Considerou-se sepsis precoce sempre que o isolamento se fez em hemocultura colhida nas primeiras 72 horas de vida, sepsis tardia entre o quarto e o vigésimo oitavo dia e pós-neonatal quando ocorreu em crianças com mais de 28 dias, internadas na UCERN.

Resultados

Foram realizados 3168 exames culturais de produtos colhidos em crianças internadas na UCERN, dos quais 55% corresponderam a hemoculturas, sendo a taxa de positividade global de 11,1%. Quando consideradas exclusivamente as hemoculturas, a taxa de positividade foi de 8%.

Analisando a globalidade dos estudos microbiológicos efectuados pode verificar-se que, ao longo dos 5 anos, foram realizados progressivamente menos exames (Figura 1). A percentagem de estudos positivos variou entre 9,6% e 12,4%, o que evidencia alguma estabilidade no número de culturas positivas.

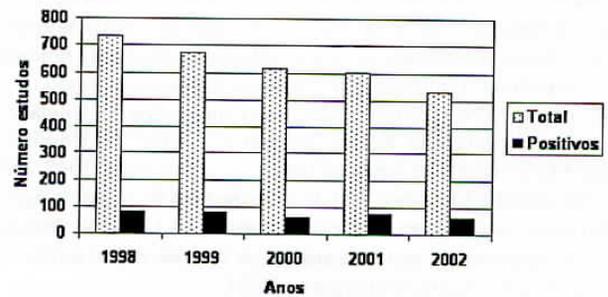


Figura 1 – Total de exames bacteriológicos e de isolamentos ao longo dos 5 anos (1998-2002).

Os agentes mais frequentemente isolados, no que diz respeito à totalidade dos estudos microbiológicos, foram o *Staphylococcus epidermidis*, a *Klebsiella pneumoniae*, o *Staphylococcus aureus*, a *Escherichia coli*, a *Pseudomonas aeruginosa* e os fungos. A prevalência dos diferentes agentes não se revelou constante ao longo dos cinco anos (Figura 2). Para os agentes mais frequentemente isolados os valores médios anuais e desvios-padrão relativos ao número de isolamentos foram: *Staphylococcus epidermidis* 12,2 ($\pm 3,8$); *Staphylococcus aureus* 9,4 ($\pm 3,6$); *Klebsiella pneumoniae* 9,4 ($\pm 4,2$); *Escherichia coli* 9,0 ($\pm 4,4$).

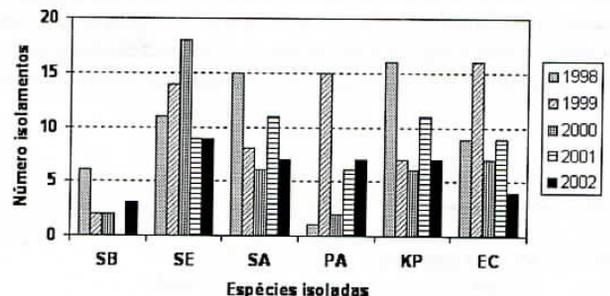


Figura 2 – Grande variabilidade anual dos agentes mais frequentemente isolados (SB – *Streptococcus B*; SE – *Staphylococcus epidermidis*; SA – *Staphylococcus aureus*; PA – *Pseudomonas aeruginosa*; KP – *Klebsiella pneumoniae*; EC – *Escherichia coli*).

Se excluirmos os agentes isolados das colheitas superficiais, nomeadamente exsudado ocular, umbilical, pele, pus e secreções respiratórias, os agentes mais frequentemente isolados foram o *Staphylococcus* coagulase-negativo, a *Escherichia coli*, a *Klebsiella*, outros Gram negativos, fungos e o *Streptococcus* do grupo B (Quadro I). Dos fungos isolados, verifica-se que quase todos pertenceram ao género *Candida*, sendo destes cerca de dois terços *Candida albicans* e um terço *Candida parapsilosis*.

Quadro I – Agentes mais frequentemente isolados em exames culturais não superficiais (sangue, cateteres, liquor e urina) (n=351).

<i>Staphylococcus coagulase-negativos</i>	23,6%
<i>Klebsiella spp</i>	15,1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,0%
<i>Escherichia coli</i>	12,8%
Outras <i>Enterobacteriaceae</i>	12,0%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,8%
<i>Streptococcus Grupo B</i>	3,7%
Outras bactérias	5,7%
Fungos	4,3%

Dos 30 isolamentos efectuados em estudos microbiológicos de cateteres centrais, os agentes mais frequente foram *Staphylococcus epidermidis* e outros *Staphylococcus*, coagulase negativos ou positivos. Dos estudos microbiológicos de cateter, 31% foram acompanhados de hemocultura periférica simultânea. De entre os casos em que foi efectuada hemocultura simultânea, foi isolado o mesmo agente em 64% dos casos, em 27% não foi isolado qualquer agente e num caso foi isolada uma estirpe distinta de *Staphylococcus* coagulase-negativo.

No que diz respeito às hemoculturas (Quadro II), foram positivas em 140 casos (8,1% das efectuadas), tendo sido isolados *Staphylococcus epidermidis* em cerca de 31% dos casos, outros *Staphylococcus* coagulase-negativo (14%), *Escherichia coli* (18%) e outras enterobacteriáceas (16%), *Streptococcus* do grupo B (7%) e fungos (4%). É importante salientar que durante este período de 5 anos foi isolada apenas uma *Listeria monocytogenes*.

Quadro II – Agentes isolados em hemocultura (n=140).

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	31,4%
Outros <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos	13,6%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,6%
<i>Escherichia coli</i>	17,9%
Outras <i>Enterobacteriaceae</i>	16,4%
<i>Streptococcus</i> grupo B	7,1%
Outras bactérias	5,7%
Fungos	4,3%

Nos casos de sepsis com agente isolado em hemocultura, verifica-se que foi precoce em 29% dos casos, tardia em 39% e pós-neonatal em 32%. Na sepsis precoce, os agentes mais frequentes foram a *Escherichia coli*, os *Staphylococcus* e o *Streptococcus* do grupo B. Nas sepsis tardias e pós-neonatais, verificou-se um claro predomínio de *Staphylococcus* coagulase-negativo, sendo também relevantes a *Klebsiella* e a *Escherichia coli* (Figura 3).

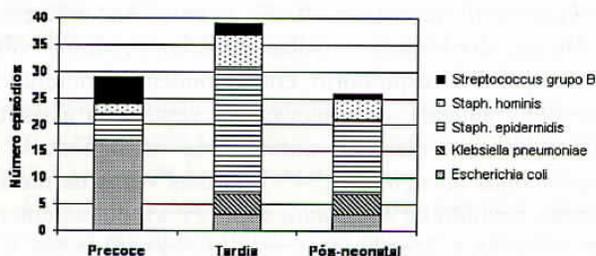


Figura 3 – Distribuição dos agentes responsáveis por sepsis, com agente isolado, em relação à idade na data de isolamento.

Os isolamentos de bactérias no líquido cefalo-raquidiano foram apenas seis, com uma distribuição homogénea dos agentes: 2 *Streptococcus* do grupo B, 1 *Staphylococcus epidermidis*, 1 *Enterococcus faecium*, 1 *Escherichia coli* e 1 *Proteus mirabilis*.

Na urina, verifica-se que 83% dos isolamentos corresponderam a enterobacteriáceas (Quadro III). Apesar de ter existido um apreciável número de *Candida albicans* isoladas, muitas vezes corresponderam à mesma criança. Embora o método de colheita de urina mais utilizado na Unidade seja através da colocação de saco esterilizado após lavagem do períneo, o laboratório, tendo esse conhecimento, só considera positivos isolamentos puros, com mais de 100000 colónias por microlitro.

Quadro III – Distribuição dos isolamentos na urina (n=47).

<i>Klebsiella spp.</i>	38,3%
<i>Escherichia coli</i>	25,5%
Outras <i>Enterobacteriaceae</i>	19,1%
Outras bactérias	10,6%
<i>Candida albicans</i>	6,4%

No que diz respeito aos exsudados oculares, frequentemente de aparecimento tardio, verificou-se um predomínio do *Staphylococcus aureus*, seguindo de um número similar de enterobacteriáceas, para além de algumas *Pseudomonas* (Quadro IV).

Quadro IV – Isolamento de bactérias no exsudado ocular (n=40).

<i>Staphylococcus aureus</i>	40,0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15,0%
<i>Escherichia coli</i>	12,5%
<i>Serratia spp.</i>	12,5%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,5%
Outras bactérias	12,5%

No pús e exsudados superficiais, a situação é idêntica à anterior, embora com um predomínio mais expressivo do *Staphylococcus aureus* em relação às enterobacteriáceas.

No que diz respeito a isolamentos em produtos colhidos do aparelho respiratório, correspondentes sobretudo a secreções traqueais, de crianças em ventilação assistida, verifica-se um elevado número de isolamentos de *Pseudomonas aeruginosa* (34%) (muitas vezes da mesma criança), seguido de *Klebsiella spp.* (21%), outras enterobacteriáceas e *Staphylococcus aureus* (Quadro V).

Quadro V – Isolamentos em secreções respiratórias (n=62).

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33,9%
<i>Klebsiella spp.</i>	21,0%
<i>Enterobacter cloacae</i>	12,9%
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,3%
<i>Serratia marcescens</i>	8,1%
Outras bactérias	4,8%
<i>Candida spp.</i>	8,1%

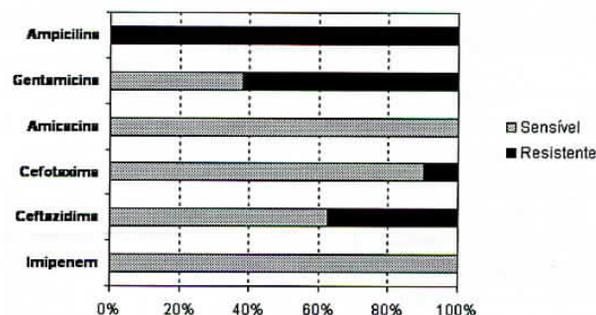
Salienta-se que vários destes isolamentos são correspondentes à mesma criança, nomeadamente no que diz respeito a fungos e *Pseudomonas* e traduzem, nessas circunstâncias, a dificuldade da sua erradicação, pelo que alguns poderão representar colonização.

Em suma, verifica-se que o *Staphylococcus epidermidis* e os fungos se relacionam fundamentalmente com sepsis tardia em RN com cateteres centrais, a maioria em alimentação parentérica. O *Staphylococcus aureus* corresponde, sobretudo, a exsudados superficiais. A *Klebsiella pneumoniae* foi isolada com mais frequência em crianças com mais de 72 horas de vida. A *Escherichia coli* surgiu principalmente no sangue e na urina de RN nos primeiros 3 dias de vida. A *Pseudomonas aeruginosa* foi isolada sobretudo em secreções da árvore traqueo-brônquica de RN em ventilação assistida. Os isolamentos de *Streptococcus* do grupo B foram pouco frequentes (5%), e todos no sangue ou no liquor.

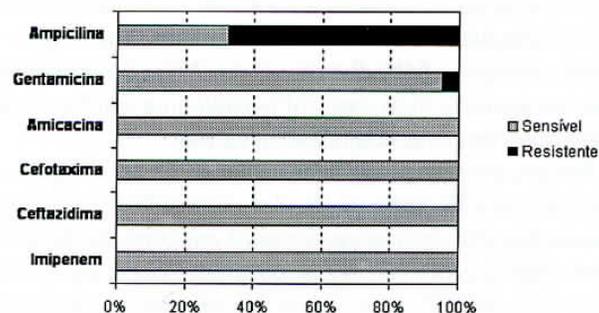
Em relação às estirpes isoladas de *S. epidermidis*, verificou-se que a sua sensibilidade à vancomicina foi sistémica e a resistência à meticilina/flucloxacilina elevadíssima, não se verificando sensibilidade à penicilina em nenhum caso.

O *S. aureus* foi sensível em 94% dos casos à meticilina/flucloxacilina, o que justifica a utilização desta última na maioria das infecções cutâneas localizadas, em RN que pareçam estar clinicamente bem.

No que diz respeito à *Klebsiella*, na maioria dos casos foi sensível à cefotaxima, antibiótico habitualmente incluído na terapêutica empírica da sepsis tardia da Unidade; a sua frequente resistência à gentamicina é preocupante (Figura 4).

Figura 4 – Sensibilidade das estirpes de *Klebsiella* aos antibióticos.

A *E. coli*, resistente à ampicilina em cerca de 2/3 dos casos, mostrou ser sensível às cefalosporinas, nomeadamente à cefotaxima e à ceftazidima, assim como aos aminoglicosídeos (Figura 5).

Figura 5 – Sensibilidade das estirpes de *E. coli* aos antibióticos.

Apesar dos isolados nos exsudados oculares apresentarem um índice relativamente elevado de resistência à tetraciclina, o uso da pomada oftálmica de tetraciclina, após o nascimento, deve ser mantida como profilaxia da infecção ocular por *Chlamydia* e *Neisseria gonorrhoeae*, dada a sua eficácia contra estes agentes.

Discussão

O objectivo primordial deste estudo consistiu na avaliação da realidade epidemiológica da UCERN do HSM ao

longo de um período relativamente longo, de forma a tornar possível o conhecimento da realidade epidemiológica nesse período e sua evolução em relação a períodos anteriores, assim como avaliar a adequação das práticas vigentes na utilização de antibióticos na Unidade, e também de permitir a comparação destes resultados com os de outras unidades de Neonatologia de nível três, quer a nível nacional, quer a nível internacional.

A prática actual de antibioterapia empírica utilizada na UCERN consiste na utilização de ampicilina associada a aminoglicosido na infecção precoce (até às 72 horas), de ampicilina associada a cefalosporina de terceira geração (frequentemente cefotaxima) na infecção tardia (após as 72 horas). Na sepsis associada à presença de catéter central é habitual a associação de vancomicina com cefalosporina de terceira geração. Quando a sepsis surge num recém-nascido sujeito a ventilação mecânica prolongada, é frequente optar-se pela ceftazidima em vez da cefotaxima. Nos casos suspeitos ou declarados de enterocolite necrosante ou em outras situações cirúrgicas abdominais na associação de antibióticos é incluído o metronidazol. Na infecção cutânea é utilizada frequentemente a flucloxacilina.

Em comparação com os dados disponíveis respeitantes à unidade desde a década de 70 (MO Guerreiro, dados não publicados), verificou-se uma redução da infecção por *Streptococcus* do grupo B a partir do ano 2000, provavelmente relacionada com a crescente preocupação com a identificação das grávidas portadoras e com a antibioterapia profilática intra-parto. O *Staphylococcus epidermidis*, raramente considerado agente patogénico até aos anos 80, foi sendo isolado em número crescente, paralelamente à maior utilização de cateteres centrais de longa duração. A *Pseudomonas aeruginosa* tem permanecido estável nas últimas décadas, assim como o *Proteus mirabilis*. A *Klebsiella pneumoniae*, responsável por grandes surtos de infecção hospitalar nos anos 70 e 90, actualmente encontra-se estabilizada em valores mais baixos. Os isolamentos de *E. coli* também diminuíram nos últimos 15 anos, tal como sucedeu com o *Enterococcus*.

Num estudo efectuado em treze unidades a nível nacional,¹ no qual foram avaliadas 292 hemoculturas positivas num universo de 5485 RN (taxa de positividade de 5,3%) verificou-se um predomínio de *Staphylococcus* coagulase-negativos (44,4%), seguido de enterobactérias (21,8%) e de *Streptococcus spp.* (16%), resultados sobreponíveis aos que encontramos no nosso estudo. Naquele estudo, a distribuição dos agentes pelos períodos precoce, tardia e pós-neonatal é sobreponível, encontrando-se no entanto uma incidência superior de *Streptococcus* do grupo B (12% contra 7% das hemoculturas positivas). No mesmo estudo, verifica-se uma percentagem substancialmente superior aos encontrados na UCERN de *S. aureus* meticilino-resistentes (37,5% contra 6%). Estes

resultados estão de acordo com a incidência relativamente baixa de estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina no Hospital de Santa Maria, quando comparado com os de outros nove hospitais portugueses num estudo efectuado em 1994². As sensibilidades aos antibióticos das restantes bactérias foram sobreponíveis às encontradas no presente estudo.

Num outro estudo efectuado numa outra unidade hospitalar portuguesa³, na qual foram estudados os recém-nascidos com sepsis internados na UCIN no ano de 1997, verifica-se igualmente um predomínio dos *Staphylococcus* coagulase-negativos (47%), seguido da *Klebsiella pneumoniae* (14%) e do *Streptococcus* do grupo B (11%), sendo a *E. coli* muito pouco frequente. Os resultados divergem do nosso estudo fundamentalmente na maior prevalência de *Klebsiella* naquela unidade e na prevalência muito significativa (18%) da *E. coli* na UCERN.

Está demonstrado que o crescente uso profilático de ampicilina durante o trabalho de parto das grávidas colonizadas com o *Streptococcus* do grupo B originou uma redução muito significativa da infecção perinatal devida a este agente^{4,5}. Entre nós, a introdução eficaz desta prática justifica o actual reduzido número destas bactérias na nossa casuística.

A modificação do espectro de microrganismos causadores de sepsis neonatal, assim como da sua sensibilidade aos antibióticos, após a introdução desta política parece ser uma realidade, existindo evidência que aponta para um aumento da incidência, no final da década de 90, da sepsis precoce por *E. coli*, resistente à ampicilina em 85% dos casos⁴. No nosso estudo, a taxa de resistência é de 67,5%. No entanto, o que se ganha parece ser muito superior ao que se perde, uma vez que o *Streptococcus* do grupo B é uma bactéria altamente patogénica para o RN, sendo a mortalidade e sequelas associadas muito superiores às que ocorrem com a *E. coli*, para a qual existe ainda um leque alargado de antibióticos eficazes no seu tratamento.

Conclusões

A realização deste estudo permitiu conhecer a realidade epidemiológica da UCERN do HSM nos últimos 5 anos, a qual não difere substancialmente da descrita noutras unidades de cuidados intensivos neonatais nacionais. Nas infecções neonatais precoces graves, os agentes mais frequentes foram a *Escherichia coli* e o *Streptococcus* do grupo B – o número de agentes isolados nestas situações acompanhou de perto o número de RN infectados. As infecções precoces graves estiveram associadas à existência de factores de risco infeccioso perinatais, conhecidos na maior parte dos casos. Nas infecções tardias graves, os agentes isolados com mais frequência foram o *Staphylococcus epidermidis*, a *Klebsiella pneumoniae*, a

Pseudomonas aeruginosa e os fungos. Contudo, e ao contrário do que aconteceu com a infecção precoce, os agentes isolados correspondem, sobretudo no que respeita à *Pseudomonas* e aos fungos, não raras vezes a várias culturas positivas na mesma criança, traduzindo a dificuldade na sua erradicação. A diminuição progressiva da infecção a *Streptococcus* do grupo B é consequência lógica da profilaxia antibiótica instituída à grávida de risco durante o trabalho de parto. Pela análise dos testes de sensibilidade aos antibióticos, verifica-se que a política antibiótica empírica da Unidade é adequada, uma vez que a associação ampicilina/aminoglicosido cobre a grande maioria dos agentes de sepsis precoce e a associação ampicilina/cefotaxima é eficaz contra a maioria dos agentes de sepsis tardia.

O isolamento de agentes infecciosos a partir de exsudados superficiais permite conhecer as características da totalidade dos agentes existentes, os quais poderão vir a ser responsáveis por doença grave noutras ocasiões. O conhecimento dos microrganismos mais frequentemente respon-

sáveis pela infecção neonatal e da sua sensibilidade aos antibióticos, a par das circunstâncias de eclosão da infecção e da forma como esta se apresenta, permite ter uma percepção muito aproximada do agente em causa e dar início à antibioticoterapia mais conveniente.

Referências

1. Neto MT *et al* (pela Secção de Neonatologia da SPP). Septicemia neonatal – Etiologia. Estudo multicêntrico da Secção de Neonatologia da SPP. *Acta Pediatr Port* 1999; 30: 299-305.
2. Melo Cristino J *et al*. Estudo multicêntrico de microrganismos isolados e de resistência aos antimicrobianos em dez hospitais portugueses em 1994. *Acta Med Port* 1996; 9: 141-50.
3. Barreirinho MS, Guedes A, Soares P, Braga AC, Oliveira P. Sepsis neonatal. *Acta Pediatr Port* 2000; 31: 371-6.
4. Stoll BJ *et al*. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birthweight infants. *N Engl J Med* 2002; 347: 240-7.
5. Centers for disease control and prevention (CDC). Decreasing incidence of perinatal group B streptococcal disease – United States 1993-1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46: 473-7.