

11237  
24  
61



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina  
División de Estudios de Postgrado  
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"  
División de Pediatría  
Secretaría de Salud

INDICADORES HEMATOLOGICOS DE INFECCION

SISTÉMICA-NEONATAL

HOSPITAL GENERAL  
DR. MANUEL GEA GONZALEZ

29 1987

División de Enseñanza y  
Actividades Académicas

**T E S I S**

Que para obtener el Título de  
ESPECIALISTA EN:  
PEDIATRIA MEDICA

presenta

DR. OMAR DE LA GARZA OTAMENDI

DR. ERNESTO ESCOBEDO CHAVEZ  
PROF. TITULAR  
DEL CURSO.

Asesor de Tesis

DR. GUILLERMO R. FRANCO DEL RIO

México, D. F.

1987

DR. GUILLERMO FRANCO DEL RIO  
ASESOR DE TESIS.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

|                        |       |     |
|------------------------|-------|-----|
| Introducción           | ----- | 1.  |
| Material y Método      | ----- | 3.  |
| Selección de pacientes | ----- | 4.  |
| Método                 | ----- | 4.  |
| Método estadístico     | ----- | 4.  |
| Resultados             | ----- | 5.  |
| Discusión              | ----- | 6.  |
| Conclusión             | ----- | 9.  |
| Cuadros                | ----- | 10. |
| Bibliografía           | ----- | 15. |

## I N T R O D U C C I O N

La infección sistémica (IS) se define como la presencia de microorganismos en el torrente sanguíneo y evidencias de lesiones inflamatorias en diferentes tejidos (1).

Esta enfermedad se presenta cada vez con mayor frecuencia en las unidades de cuidado intensivo neonatal debido a que son múltiples los procedimientos invasivos necesarios para el manejo de los pacientes gravemente enfermos (2) y se presenta como casos aislados o epidemias aunque por lo general adopta un patrón endémico en cada sala.

Para que se establezca la enfermedad debe conjuntarse una serie de factores que de alguna manera favorecen la colonización e invasión de microorganismos en el huésped y en el caso particular del recién nacido las alteraciones propias de sus mecanismos inmunológicos de defensa, los hacen particularmente susceptibles (3).

Los principales factores predisponentes identificados para el desarrollo de la IS en el recién nacido son la ruptura de membranas de más de 24 horas antes del nacimiento, la instrumentación obstétrica, infecciones maternas como la corioamniotitis, el parto en condiciones sépticas, los procedimientos invasivos durante la reanimación neonatal y el cateterismo venoso ó arterial umbilical (2) y los sitios de entrada de los microorganismos son generalmente el enteral, respiratorio, conjuntival, umbilical y cutáneo.

Estos agentes causales pueden ser bacterias, virus e incluso parásitos, destacando las enterobacterias como E. Coli, ---- Klebsiella sp., Pseudomonas sp y en menor número de casos ---- S. aureus, S. epidermidis y S. viridians (4). En los Estados Unidos de Norteamérica además de los ya referidos, tienen importancia el estreptococo del grupo B así como la Listeria monocytogenes (1,2).

El diagnóstico de IS en el recién nacido es difícil de establecer ya que los signos clínicos son vagos e inespecíficos e incluso son comunes a otras enfermedades, es frecuente también que existan variaciones de presentación clínica de acuerdo con el agente causal, localización, lesión a órganos vitales --

así como duración y severidad de la enfermedad (5).

Como es costumbre, el clínico se ve en la necesidad de realizar un análisis integral de los antecedentes así como del cuadro clínico y la exploración física; que en pocas ocasiones, lo orientan definitivamente al diagnóstico de certeza de la enfermedad.

La siguiente lista es un ejemplo de la gran viabilidad de antecedentes y aspectos clínicos que se relacionan con la enfermedad en el neonato (6).

- A) Infección del canal del parto.
- B) Peso bajo al nacer.
- C) Malformaciones congénitas.
- D) Fiebre o hipotermia.
- E) Escleredema.
- F) Letargo.
- G) Rechazo al alimento.
- H) Cianosis.
- I) Disnea, apnea o taquipnea.
- J) Hipotensión arterial.
- K) Piel pálida y fría.
- L) Respiración irregular.
- M) Hiporreflexia.
- N) Convulsiones, temblores o irritabilidad.
- N) Fontanela abombada.
- O) Distensión abdominal.
- P) Hepatomegalia.
- Q) Vómito.
- R) Diarrea.
- RR) Ictericia.
- S) Esplenomegalia.
- W) Púrpura.
- X) Petequias.
- Y) Equimosis.
- Z) Sangrado.

Por lo anterior se ha hecho evidente la necesidad de contar con estudios de laboratorio que establezcan la manera oportuna y segura en el diagnóstico definitivo.

De dichos estudios es el hemocultivo el que cubra esta necesidad en un poco más de la mitad de los casos, aunque se requiere de-

un mínimo de 48-72 horas para que se confirme el diagnóstico (1), lo que representa una pérdida de tiempo invaluable para el inicio del tratamiento (3).

Otras pruebas que han sido útiles para la evaluación inicial de estos pacientes son las cuentas celulares de la biometría hemática y así por ejemplo una cifra de leucocitos menor de 5000/mm<sup>3</sup> ó mayor de 30,000/mm<sup>3</sup> (7) y trombocitopenia menor de 150,000/mm<sup>3</sup> (8) han sido relacionadas con IS; la elevación en sangre de los reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva ó la haptoglobina sérica también han sido encontradas en neonatos con IS (9).

Recientemente se ha propuesto que los cambios morfológicos en los leucocitos pueden ser más útiles que las pruebas antes mencionadas.

Estos cambios: vacuolización (V) y granulaciones tóxicas (GT) del citoplasma de los neutrófilos; que se presentan en respuesta a la infección ya habían sido identificados desde 1935 (10); se ha confirmado su presencia en adultos (11) y aún en recién nacidos prematuros (12); pese a que la fagocitosis bacteriana en este grupo de edad es poco eficiente (13). Cheng-Hurd-Liu y colaboradores (14) han vuelto a reconsiderar estos cambios que se presentan en pacientes infectados y que dependen de la fagocitosis y muerte intracélular de las bacterias.

Estos autores han encontrado a dichos cambios más útiles en predecir la enfermedad en sus pacientes en comparación con otras pruebas tradicionalmente empleadas para este fin.

En este trabajo describimos las anomalías hematológicas de un grupo de recién nacidos con y sin infección sistémica con especial interés en los cambios morfológicos de los neutrófilos y su capacidad para identificar y predecir oportunamente la enfermedad.

#### M A T E R I A L Y M E T O D O S

De Mayo a Noviembre de 1986 se estudiaron en forma prospectiva a todos los recién nacidos en la sala de Neonatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea Gonzalez" de la Secretaría de Salud, con sospecha clínica de infección sistémica ca--

racterizada por antecedentes de ruptura de membranas de más de 24 horas antes del nacimiento, parto séptico, procedimientos invasivos durante la reanimación neonatal y cateterismo umbilical--además de la presencia de dos o más de cualquiera de los siguientes signos: distermia, rechazo al alimento, letargia, apnea recurrente, distensión abdominal, vómito, diarrea, hepato-esplenomegalia, sangrados o hipotensión arterial.

Se excluyeron aquellos con edad posnatal mayor de 28 días --anteriores de hipertensión materna, apgar menor de 5 a los 5 --minutos, enfermedad hemolítica, cirugía mayor y los que al inicio del estudio presentaban crisis convulsivas, hemorragia intracraneana, neumotórax o síndrome de aspiración de meconio (7)

El diagnóstico de certeza se realizó con uno o más hemocultivos positivos o evidencias de infección sistémica durante --la autopsia.

Se consideró anormal la presencia de vacuolizaciones y granulaciones tóxicas de los neutrófilos en 1 o más de 100 células --revisadas (12), menos de 1,750 neutrófilos/mm<sup>3</sup> (7), menos de --100,000 plaquetas/mm<sup>3</sup> (15) y una relación bandas/neutrófilos mayor o igual a 0.20 (9).

Las muestras de sangre fueron obtenidas por venopuntura, --colocados en tubos de EDTA y los frotis teñidos con colorante--de Wright. En todos los casos, la observación de los cambios citoplásmáticos así como las cuentas de plaquetas y las células sanguíneas fueron realizadas por uno de nosotros (DIGO) en microscopio de luz y contrastes de fases sin conocer el cuadro clínico --o los resultados de los cultivos. A cada paciente se realizó un mínimo de dos frotis donde se revisaron 100 neutrófilos para determinar la presencia de vacuolizaciones o granulaciones tóxicas y el promedio de las dos lecturas fué registrada.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizaron las pruebas de chi cuadrada con corrección de Yates (23) y la teoría de Bayes para la sensibilidad, especificidad y valores predictivos (24). Para este estudio se estableció una diferencia estadística cuando los valores de p fueron menores de 0.05. El estudio fué aprobado por el Comité de Investigación del mismo Hospital --y requirió del consentimiento firmado por los padres para inclu-

ir a cada paciente al estudio.

Se definió a la sensibilidad como la probabilidad de que la prueba resultase positiva en caso de enfermedad. A la especificidad como la probabilidad de que la prueba fuese negativa en ausencia de enfermedad, valor predictivo positivo como la probabilidad de predecir la enfermedad en los casos en que se encontrase la prueba positiva y como valor predictivo negativo como la probabilidad de que no existe la enfermedad en caso de encontrar la prueba como negativa.

## RESULTADOS

Durante dicho período ingresaron al estudio 146 pacientes, -- 16 fueron eliminados por tener alguno de los criterios de exclusión al estudio; de los 130 restantes, en ninguno de 100 pudo demostrarse infección sistémica (Grupo A), y en los otros 30 (Grupo B), se comprobó por hemocultivos positivos en 22 y en 8 por hallazgos y cultivos durante la autopsia.

La edad gestacional medida por el método de Ballard (16) fué de  $38.9 \pm 484$  gramos (variaciones de 2,525-4,550), la edad posnatal al momento del estudio de  $4 \pm 0.5$  días (variación de 1-6) y -- el 56% había sido obtenido por vía vaginal. Para estas características no se encontró diferencias significativas al comparar ambos grupos (Cuadro 1).

Las manifestaciones clínicas de infección sistémica se señalan en el cuadro 2, siendo las más frecuentes: inestabilidad térmica y distensión abdominal en más de la mitad de los casos; en ningún paciente se encontraron datos de estado de choque o coagulación intravascular diseminada al momento de su ingreso al estudio.

Los microorganismos encontrados correspondieron en el 80% de los casos a enterobacterias, que en orden de frecuencia fueron: Enterobacter aerogenes (12), Escherichia coli (6), Klebsiella ozaenae (4) y Pseudomonas sp (2). El estafilococo aureus, el estafilococo epidermidis se encontraron en tres pacientes respectivamente. No se encontró ningún aislamiento de estreptococo del grupo B ni de hongos (Cuadro 3).

Las anomalías hematológicas encontradas en los pacientes-

se señalan en el Cuadro 4, y como puede verse, los cambios morfológicos fueron observados con mayor frecuencia que las otras alteraciones. En aquellos con infección sistémica demostrada se encontraron en el 87% de los casos ( $p$  menor de 0.001), siguieron en frecuencia la relación bandas/neutrófilos alterada, trombocitopenia y neutropenia que no se observó en ningún caso sin infección comprobada. Para estos tres últimas pruebas también se encontraron -- diferencias estadísticamente significativas ( $p$  menor de 0.001) al comparar los grupos.

Los cambios morfológicos fueron encontrados en 3 a 8 de cada 10 células revisadas y no necesariamente la observación de uno se correlacionó con la presencia de otro.

Los valores relativos de cada una de las pruebas estudiadas y su capacidad de predecir la infección se muestran en el Cuadro 5. El valor predictivo positivo para las vacuolizaciones y granulaciones tóxicas fué de 59 y 54% con una sensibilidad de 82 y 78% -- respectivamente, cuando se usaron ambas pruebas en combinación la capacidad de predecir la enfermedad se elevó hasta el 76%. La trombocitopenia y la relación bandas/neutrófilos alterada mostraron cifras inferiores. La neutropenia tuvo el valor predictivo positivo y la especificidad más alta 100%, aunque la sensibilidad y valor predictivo negativo más bajo de las cinco pruebas estudiadas. Esta alteración se observó solo en dos pacientes infectados.

## D I S C U S I O N

En este estudio clínico realizado para evaluar la presencia de cambios hematológicos en recién nacidos con infección sistémica se encontró que los cambios morfológicos del citoplasma de los -- neutrófilos pudieron establecer la presencia de infección de manera oportuna en el 76% de los pacientes ya que se encontraron en -- casi el 90% de los mismos.

A diferencia de otros estudios, nosotros establecimos claramente la presencia de infección sistémica por la revisión de los hallazgos de autopsia en los casos en que los hemocultivos fueron -- negativos en vida. En el momento de la sospecha clínica de la enfermedad realizamos simultáneamente la búsqueda de alteraciones -- hematológicas y de bacterias en sangre antes del inicio del trata-

miento con antimicrobianos y tuvimos especial cuidado en obtener y procesar las muestras de una manera uniforme (17) así como de -- excluir a aquellos pacientes quienes tuvieran algún factor que modificara las cuentas cëlulares (7).

La V y GT, representan una secuencia de los fenómenos de fagocitosis y muerte intracelular de bacterias. Hirsch y Cohn (18), -- ya habían observado que los neutrófilos en suspensión con bacterias presentaban vacuolas en su citoplasma conforme ingerían un -- número creciente de bacterias. Estos hallazgos han sido encontrados en todos los grupos de edad, incluyendo recién nacidos prematuros infectados (12) a pesar de que se ha comprobado poseen un -- sistema inmune poco eficiente en esta edad (13). Chen-Hurd-Liu y -- Cols., (14) encontraron a los cambios morfológicos como los indicadores de IS más útiles para identificar oportunamente a sus neonatos con infección que la relación B/N alterada, leucopenia y -- trombocitopenia. Estos resultados son similares a los encontrados en este estudio.

Su capacidad para predecir la enfermedad fué similar aunque -- usando ambas pruebas en combinación, este valor se incrementó hasta el 76% de los casos.

Corrigan ya había establecido la relación entre IS y la presencia de trombocitopenia menor de 150,000/mm<sup>3</sup> (8), y Jasso en -- nuestro medio (15), también encontro esta relación; en el presente estudio nosotros preferimos ser más exigentes para definir trombocitopenia con cifras inferiores a 100,000/mm<sup>3</sup> a fin de elevar la -- especificidad de la prueba sin modificar sustancialmente la sensibilidad de la misma. Y encontramos que cuando la trombocitopenia -- estuvo ausente existió el 96% de probabilidades que no había la enfermedad.

La razón por la cual nuestros pacientes evidenciaron neutropenia no es fácil de explicar ya que algunos factores diferentes a infección son capaces de producirla: hipertensión arterial materna asfíxia severa, y hemorragia intracraneana (7), algunas otras como marginación vascular por endotoxinas (19) asociación con enterocolitis necrotizante (20) (como fué observada en uno de los pacientes con esta alteración) e incluso la presencia de estreptococo -- del grupo B que en algunos estudios experimentales se ha observado como consecuencia de alteraciones hemodinámicas severas con se-

cuestro pulmonar de estas células (21,22).

Otros autores han encontrado que en neonatos con infección documentada solo en 4 de 9 existió depleción de neutrófilos en la médula ósea (23).

Por lo anterior el valor real de la neutropenia en nuestro estudio fué difícil de establecer.

De nuestros resultados y de los obtenidos por otros autores --- puede decirse que las vacuolizaciones y granulaciones tóxicas son -- índices hematológicos útiles en la detección oportuna del recién nacido con infección. Estos cambios citoplasmáticos establecen una ayuda rápida y accesible al clínico en cualquier nivel de atención hospitalaria.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## CONCLUSIONES

1. Se estudiaron las alteraciones hematológicas que se presentan en los recién nacidos con y sin infección sistémica.
2. Se encontró que las manifestaciones clínicas de la infección --- sistémica neonatal fueron inespecíficas de la enfermedad.
3. Al igual que en otros estudios, la principal causa de la enfermedad correspondió a enterobacterias gram negativas.
4. La presencia de los cambios morfológicos: vacuolización y granulaciones tóxicas del citoplasma de los neutrófilos se observó en el 87% de los pacientes infectados.
5. Al emplear ambos cambios morfológicos en combinación fué posible establecer el diagnóstico oportuno en el 76% de los pacientes.
6. La trombocitopenia, la relación bandas/neutrófilos alterada y la neutropenia fueron variables de poca utilidad para la evaluación de los neonatos con infección sistémica.
7. Pensamos que se requiere de más estudios para determinar el verdadero valor de la neutropenia como índice hematológico de infección sistémica.
8. El análisis cuidadoso de los cambios morfológicos de los neutrófilos puede ser de gran ayuda para identificar oportunamente al recién nacido con la enfermedad.

CUADRO 1.

CARACTERISTICAS CLINICAS EN 130 PACIENTES CON SOSPECHA  
DE INFECCION SISTEMICA NEONATAL

| CARACTERISTICAS                 | GRUPO A* (n=30) |     | GRUPO B** (n=100) |     |
|---------------------------------|-----------------|-----|-------------------|-----|
|                                 | X               | DE  | X                 | DE  |
| EDAD GESTACIONAL<br>( semanas ) | 38.9            | 2.1 | 39.1              | 1.2 |
| PESO<br>( gramos )              | 3125            | 484 | 2990              | 315 |
| EDAD POSNATAL<br>( días )       | 4               | 0.8 | 4                 | 0.3 |
| VIA DE NACIMIENTO               |                 |     |                   |     |
| Parto                           | 19              |     | 54                |     |
| Cesárea                         | 11              |     | 46                |     |

\* Con infección sistémica comprobada.

\*\*Sin infección sistémica comprobada.

CUADRO 2.

MANIFESTACIONES CLINICAS EN 30 PACIENTES CON INFECCION  
SISTEMICA NEONATAL

| CARACTERISTICA        | %  |
|-----------------------|----|
| Inestabilidad térmica | 80 |
| Distensión Abdominal  | 75 |
| Hiporreactividad      | 60 |
| Rechazo al alimento   | 45 |
| Apnea secundaria      | 35 |
| Visceromegalias       | 35 |
| Ictericia             | 30 |

CUADRO 3.

MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN 30 PACIENTES CON  
INFECCION SISTEMICA NEONATAL

| BACTERIA                        | n  | %   |
|---------------------------------|----|-----|
| <u>Enterobacter aerogenes</u>   | 12 | 40  |
| <u>Escherichia coli</u>         | 6  | 20  |
| <u>Klebsiella ozanae</u>        | 4  | 13  |
| <u>Estafilococo aureus</u>      | 3  | 10  |
| <u>Estafilococo epidermidis</u> | 3  | 10  |
| <u>Pseudomonas sp.</u>          | 2  | 7   |
| <u>T O T A L</u>                | 30 | 100 |

CUADRO 4.

CARACTERISTICAS HEMATOLOGICAS ENCONTRADAS EN DOS GRUPOS DE  
PACIENTES CON Y SIN INFECCION SISTEMICA

| CARACTERISTICA                     | GRUPO A*(n=30)<br>% | p     | GRUPO B**(n=100)<br>% |
|------------------------------------|---------------------|-------|-----------------------|
| Vacuolizaciones<br>tóxicas         | 87                  | 0.001 | 18                    |
| Granulaciones<br>tóxicas           | 87                  | 0.001 | 22                    |
| Rel. B/N alterada***               | 46                  | 0.05  | 16                    |
| Trombocitopenia<br>(- 100,000/mm3) | 27                  | 0.05  | 14                    |
| Neutropenia<br>(- 1,750/mm3)       | 7                   | 0.05  | 0                     |

\* Con infección sistémica neonatal comprobada.

\*\* Sin infección sistémica comprobada.

\*\*\* Relación bandas/neutrófilos alterada. (Mayor ó igual de 0.20).

CUADRO 5.

VALORES RELATIVOS DE 5 PRUEBAS ESTUDIADAS EN 130 PACIENTES  
CON Y SIN ISN\*

| PRUEBA                           | Vacuolización<br>tóxicas | Granulaciones<br>tóxicas | Rel. Bandas/Neu-<br>trófilos | Tromboci-<br>topenia | Neutropenia |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------|-------------|
| Pruebas<br>positivas             | 44                       | 48                       | 30                           | 12                   | 2           |
| Pruebas<br>positivas<br>con ISN* | 26                       | 26                       | 16                           | 4                    | 2           |
| Sensibilidad                     | 82%                      | 78%                      | 47%                          | 27%                  | 7%          |
| Especificidad                    | 82%                      | 78%                      | 84%                          | 96%                  | 100%        |
| Valor predictivo<br>positivo     | 59%                      | 54%                      | 53%                          | 33%                  | 100%        |
| Valor predictivo<br>negativo     | 95%                      | 95%                      | 84%                          | 81%                  | 78%         |

ISN\*: Infección Sistémica Neonatal.

B I B L I O G R A F I A:

1. Kumate J: Manual de Infectología. México, DF: Francisco Méndez - Hernández editor, 1984.
2. Erickson M: Neonatal Septicemia. Acta Paediatr Scand 1983; 72: --- 1-8.
3. Avery GB: Neonatology, pathophysiology and management of the new-born. 2a ed. Whashington: Lippincott, 1981, pág. 1022-1047.
4. Vargas OA, Escobedo Ch E, Mercado AA: Epidemiología de las bacterias en una unidad de cuidados intensivos neonatal. Bol Med Hosp-Infan Mex 1985; 42: 306-309.
5. Siegel JD, Mcracken HG: Sepsis Neonatarum. N Engl J Med 1981; -- 304: 642-647.
6. Jasso-Cutierrez L: Neonatología práctica. México, DF: El Manual - Moderno, 1985, pág. 75-93.
7. Monroe BL, Weinberg AG, Rosenfled Ch R, Browne R: The neonatal -- blood count in health an disease. I reference values for neutro--philics cells. J Paediatr 1979; 95: 89-98.
8. Corrigan JJ: Thrombocytopenia: A laboratory sign of septicemia in infants and children. J Paediatr 1974; 85: 219-221.
9. Philp AG, Hewitt JR: Early diagnosis of neonatal sepsis. Pedia--trics 1980; 65: 1036-1041.
10. Haden RL: Qualitative changes in neutrophilic leucocytes. Am J -- Clin Pathol 1935; 5:354. Citado por 12.
11. Zieve PD, Haghshenass M, Blanks M: Vacuolization of the neutro -- phil, an aid in the diagnosis of septicemia. Arch Inter Med 1966; 118:741.
12. Zipursky A, Palko A, Mainer E: The hematology of bacterial infec--tions in premature infants. Pediatrics 1976; 57: 839-845.
13. Christopher B, Wilson M: Immunologic basis for increased suscep--tibility of the neonate to infection. J Paediatr 1986; 108: 1-2.
14. Cheng-Hurd L, Carol L, Speer ME: Degenerative changes in neutro--phils: An indicator of bacterial infection. Pediatrics 1984; 74:- 823-827.

15. Jasso CL, Vargas OA: Trombocitopenia como signo de septicemia en el recién nacido. *Gac Med (Mex)* 1976; 111: 317-320.
16. Ballard J, Kasmaier K, Driver M: A simplified score for assessment of fetal maturation of newly born infant. *J Pediatr* 1979; 95: 769-773.
17. Cartwright GE: El laboratorio en el diagnóstico hematológico. -- Ed. Científico Médico, 1975, pág. 24-26.
18. Hirsch JG, Cohn ZA: Degranulation of polymorphonuclear leukocytes following phagocytosis of microorganisms. *J Exp Med* 1960; 112: 1005.
19. Athens JW, Haab O, Raab S, Maur A: Leukokinetic studies IV. The total blood, circulating and marginal granulocyte pools and the granulocyte turnover rate in normal subjects. *J Clin Invest* 1961; 40:989.
20. Hutter JJ, Hathaway WE, Wayn ER: Hematologic abnormalities in severe neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1976; 88: 1026-1030.
21. Rojas J, Larsson LE, Hellerqvist CG, Brigham KL: Pulmonary hemodynamic and ultrastructural changes associated with group B streptococcal toxemia in adult sheep and newborn lambs. *Pediatr Res* 1983; 17: 1002-1008.
22. Manroa BL, Rosenfeld CR, Browne R: The differential leukocyte count in the assessment and outcome of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *J Pediatr* 1977; 91:632.
23. Christense RD, Rothstein G: Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. *J Pediatr* 1980; 96: 316-318.