

19  
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION**

**ANALISIS COMPARATIVO DE METODOLOGIAS PARA  
EL DIAGNOSTICO DE INFECCIONES BACTERIANAS  
NEONATALES**



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A :**

**ROSA MARIA GUADALUPE CONTRERAS RUIZ**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1988



## **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.

## I N D I C E

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I GENERALIDADES</b>	<b>3</b>
<b>CAPITULO II METODOLOGIA</b>	<b>70</b>
<b>CAPITULO III DISCUSION Y COMENTARIOS</b>	<b>77</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>80</b>

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

Es bien conocida la dificultad para establecer un diagnóstico de infección bacteriana en el período neonatal. Estos estudios incluyen una historia clínica del tiempo de ruptura de membrana y nacimiento, así como otros signos como apnea recurrente, falla para succionar, letargo, crepitaciones pulmonares, ictericia no usual, fiebre sostenida, etc. El diagnóstico sin embargo, se hace con el apoyo del laboratorio, con pruebas sugeridas que incluyen: Hemocultivo, cultivo de LCR, determinaciones de Inmunoglobulina M (IgM), Proteína C-reactiva (PCR), Suero Orosomucoide, Haptoglobina (Hp), Eritrosedimentación (ERS), Buffy-Coat, relación Banda/segmentados, cuenta de Leucocitos.

La presente investigación documental tiene por objeto el estudiar y analizar los métodos del laboratorio efectuados por diferentes autores y en diferentes tiempos para poder valorar la utilidad del menor número de pruebas que tengan mayor eficacia y eficiencia para diagnosticar una sepsis neonatal.

## G E N E R A L I D A D E S

Uno de los más grandes problemas que existen en el neonato infectado, es precisamente su diagnóstico temprano y oportuno, ya que hay padecimientos que pueden cursar con una sintomatología semejante, como las anemias, Síndrome de Insuficiencia Respiratoria, lesiones del S.N.C. o alteraciones metabólicas como la hipoglicemia. La inespecificidad de los signos que presentan estos neonatos se debe principalmente a la inmadurez sistémica del propio ser y así lo rudimentario de las respuestas a agentes nocivos externos.

Lo expuesto anteriormente ha sido motivo de preocupación de varios investigadores por lo que han tratado de encontrar métodos de laboratorio que permitan detectar en cor-

to tiempo la presencia o la ausencia de infección bacteriana. Así en 1919 Ylppö,<sup>83</sup> informó de un estudio bacteriológico cuidadoso de la sangre y órganos obtenidos post-mortem, de neonatos que murieron con diversas enfermedades clínicas. En esta serie 12 de 29 cultivos de sangre del corazón fueron positivos; en 6 de éstos el microorganismo cultivado fue el cocobacilo. La conclusión de Ylppö fue de que los cultivos post-mortem de la sangre del corazón tomada en forma apropiada inmediatamente después de la muerte son indicadores confiables de la existencia de la invasión diseminada en la sangre ante-mortem. Danham en 1933, describió un grupo de 39 neonatos demostrando por métodos bacteriológicos adecuados, septicemia en el período del recién nacido. En 30 casos, el diagnóstico fue basado en el hemocultivo ante-mortem. En esta serie Streptococcus haemolyticus volvió a ser el agente responsable de la infección (15 casos), el Staphylococcus 11 casos; y de E. coli 10 casos; lo que se aproximó más por grado de frecuencia y se describió la gran variedad de síntomas clínicos característicos de esta enfermedad; señaló la falta de especificidad de sus manifestaciones y enfatizó la dificultad consecuente en hacer el diagnóstico de la septicemia neonatal; observó asimismo, que la

meningitis y los abscesos metastásicos múltiples son complicaciones frecuentes de septicemia. Otros casos aislados antes de la terapia específica antimicrobiana probaron ser septicemia meditante hemocultivo ante-mortem, como fue reportado.

En 1949 Silverman y Homan describieron manifestaciones clínicas en un grupo de 25 neonatos con septicemia, en quienes el origen de la enfermedad no se estableció.

De interés particular, son los pacientes descritos por Clifford en 1947, en éstos la septicemia en la madre y la infección en el recién nacido fue causada por el mismo microorganismo. El hemocultivo confirmó la septicemia en dos de estos neonatos.

Debré y col. en 1949 han observado un número de microorganismos "intestinales".

Obrinsky y col en 1950 estudiaron cinco recién nacidos con septicemia, causada por Klebsiella pneumoniae, tres de los recién nacidos fueron prematuros, el único sobreviviente de este grupo fue uno cuya enfermedad se describió en forma temprana y el cual fue tratado intensamente con antimicrobianos.

## LAS INFECCIONES BACTERIANAS EN EL RECIEN NACIDO

Se han hecho muchos intentos para sistematizar un diagnóstico apropiado del neonato infectado<sup>29</sup>. Ciertos factores maternos predisponen al feto y neonato a infección; éstos incluyen infecciones de la madre, ruptura prolongada de membranas y complicaciones en el parto en el que ocurre anoxia fetal<sup>57</sup>.

Overall<sup>57</sup> ha demostrado algunos aspectos relacionados a las causas de predisposición de incidencia de infecciones en meningitis neonatal; éstos son: complicaciones durante el parto, infecciones maternas periparto y corioamnionitis (8122), infecciones intrauterinas asociadas con  $>30\text{mg/dl}$  de  $\text{IgM}^{29}$ . También está involucrada la evaluación del neonato post-parto, en esta evaluación se incluye: examen histológico, aspiración y examen de contenido gástrico para detectar presencia de células inflamatorias, bacte

rias y determinación de IgM<sup>13,86</sup>. Todos estos signos - son de ayuda pero solo para identificar al grupo de alto riesgo para administrar terapia antimicrobiana

Varios procedimientos del laboratorio han sido propuestos para detectar infecciones neonatales<sup>5,15,24,26,37,45,77</sup>

; pero la mayoría son de valor limitado como ayuda diagnóstica.

Los parámetros a determinar serán de acuerdo a la sospecha de infección; cada prueba de laboratorio se apoyará en un grupo de signos y síntomas clínicos con objeto de facilitar un diagnóstico temprano<sup>25</sup>, establecer tratamiento rápido para la sobrevivencia del neonato, así como prevenir secuelas<sup>34</sup>.

Para el diagnóstico de septicemia neonatal, los estudios del laboratorio son críticos, esencialmente bacteriológicos; por ejemplo un hemocultivo positivo da sólo la evidencia concluyente de la existencia de infección<sup>83</sup>.

De los parámetros a determinar en sospecha de infección:

- 1) Frotis de aspiración gástrica
  - a) recuento de Leucocitos y diferencial
  - b) Buffy-Coat
- 2) Urocultivo, Hemocultivo, cultivo de LCR

- 3) Buffy - Coat
- 4) Relación Banda/Segmentados (neutrófilos)
- 5) Microeritrosedimentación (mini-ESR)
- 6) Determinación de IgM
- 7) Determinación de Proteína C-reactiva (PCR)
- 8) Determinación de  $\alpha_2$ -glicoproteína ( $\alpha_2$ -AGP) (orosomu-  
coide)
- 9) Haptoglobina (Hp)

Todas las determinaciones son igualmente importantes ya sea aisladas o la combinación de varias, según la sospecha clínica.

La mayoría de los investigadores han estudiado en forma aislada las pruebas anteriores; claro está que todo ha sido comprobado por cultivo bacteriano para poder llegar a una conclusión, sin embargo; otros investigadores han asociado dos o más parámetros.

En esta revisión se describen una a una las pruebas anteriores y su aplicación más relevante.

#### BUFFY-COAT

La demostración de microorganismos en preparaciones teñidas de Buffy-Coat en sangre de neonatos es una prueba rápida y específica para el diagnóstico temprano de bacteremia. 25,43

Faden H.S. <sup>25</sup> estudió 84 neonatos enfermos de la Unidad de Cuidados Intensivos del Centro Médico de la Universidad de Utah.

Se colectaron muestras de sangre periférica venosa (2ml) para cultivos aerobios, anaerobios y frotis para Buffy-Coat, los que se tiñeron con Gram y Azul de Metileno. Se revisaron los datos clínicos y del laboratorio con cultivos positivos para distinguir neonatos con bacteremia y cultivos positivos por contaminación. Se observaron 9<sup>7</sup> frotis obteniéndose los siguientes datos:

TINCION: Gram y Azul de Metileno

---

GERMEN	CULTIVOS POSITIVOS	BUFFY-COAT POSITIVOS
	15	7
Contaminación	5	0
<u>E. coli</u>	4	2
<u>S. aureus</u>	3	1
<u>K. pneumoniae</u>	1	1
<u>Cl. perfringes</u>	1	1
<u>Enterococo</u>	1	1
<u>S. aureus</u>	1	1*
<u>Citrobacter sp.</u>		

---

\* Buffy-Coat positivo para cocos gram positivos y bacilos gram negativos.

Los organismos no observados fueron de 3 neonatos con

S. epidermidis y con difteroides.

El incremento relativo de bacterias en la sangre del neonato puede reflejar la inmadurez en mecanismos de defensa

específicos. 29

Utilizando la tinción con Naranja de Acridina se identifican 8 de 9 procesos con bacteremia, representa las ventajas de una técnica de fluorescencia rápida y requiere menos muestra 140  $\mu$ l incluyendo el cultivo. 19,43,87

La evaluación rápida de neonatos con posible sepsis, no provee información diagnóstica como el Gram pero se puede distinguir cocos de bacilos y el médico podrá instituir la terapia antimicrobiana.

Se evaluaron 120 Buffy-Coat y respectivos cultivos de 89 neonatos 43 obteniéndose los siguientes datos:

TINCION: Naranja de Acridina

---

	HEMOCULTIVO		FROTIS BUFFY_COAT	
	Positivo	Negativo	Positivo	Neg.
Infeción Clínica (n=9)	6	3*	8	1+
Sin Infeción Clínica (n=111)	7	104	4	107

---

\* Todos recibieron antibióticos para septicemia, la bacteremia fue documentada con Hemocultivo.

+ Recibieron antibióticos, se aisló K. pneumoniae después de 7 días.

Un germen patógeno se aisló en 6 de 9 pacientes con infección clínica. Los cultivos de otros 3 pacientes fueron positivos para Streptococcus grupo B, Bacteroides fragilis, Streptococcus faecalis; el Buffy-Coat fue positivo en 8 de 9 pacientes con infección clínica el Buffy-Coat fue negativo en un paciente que le habían administrado gentamicina.

Esta técnica es más rápida para observar que la tinción con Gram o Azul de Metileno.

#### RELACION BANDA/SEGMENTADOS.

Las cuentas de leucocitos en recién nacidos son tan variables que se han considerado de poco valor; <sup>94</sup> sin embargo, autores como Hofmann y Welcker 1923, Tognz 1930, Muhl 1949 Klus, Schlagetter y Wolck; Ttel 1958, Straková 1964, se han ocupado a este respecto.

Las determinaciones seriadas de leucocitos en neonatos de término y pretérmino en los primeros días de vida muestran su patrón constante <sup>93</sup>

Un incremento en el número de neutrófilos circulantes con predominio de formas jóvenes (en banda) es una característica definida de pacientes con infección bacteriana.

En los trabajos de Akenzua y col. <sup>9</sup> se establecen valores hematológicos "normales" Banda/Segmentados en recién nacidos durante los primeros 5 días de vida.

Estudiaron dos grupos: 1) 169 recién nacidos de término sanos (37 - 40 semanas de gestación) del Henderson General Hospital, Hamilton Ontario Canadá. 2) 9 neonatos de término con evidencia clínica de infección dentro de los primeros 5 días de vida cuya infección se comprobó por cultivo; 4 neonatos con septicemia, 3 con meningitis, 1

con infección del tracto urinario y 1 con cefalohematoma. La sangre fue obtenida de cordón, el recuento total de leucocitos se realizó en un contador electrónico Coulter (Modelo S), el recuento diferencial se llevó a cabo contando 100 leucocitos, la tinción que se hizo fue el método de Wright.

Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas:

Número absoluto de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangre de 169 neonatos normales de término.

Tiempo de muestreo	Promedio	Desviación estándar	Límite de* confianza	Mediana	Rango para 95%	
					Bajo	Alto
Nacimiento	5,460	2,470	0.839	5,170	860	11440
Día 1	13,670	5,104	0.410	13,560	4260	23560
Día 5	4,280	2,127	1.251	3,960	1170	10580

\*Límites de confianza  $\geq 0.369$  P  $\leq 1.05$

Número absoluto de Bandas/ $\text{mm}^3$  de sangre de 169 neonatos normales de término.

Tiempo de muestreo	Promedio	Desviación estándar	Límites de* confianza	Mediana	Rango para 95%	
					bajo	alto
Nacimiento	358	419	1,371	155	0	1410
Día 1	531	664	1,771	306	0	2220
Día 5	282	345	1,948	189	0	1240

\* Límite de confianza  $\geq 0.369$ ; P  $\leq 0.05$

Estos datos han sido analizados estadísticamente, éstos dan una distribución asimétrica hacia valores altos de acuerdo con las observaciones de Gregory and Hey.<sup>34</sup>

Los datos de los neonatos con infección se muestran en la siguiente tabla:

Paciente No.	Semanas Gestación	Peso al nacimiento	Período postnatal Días	Datos Clínicos	Muestra para cultivo	Microorganismo aislado
1	38	2580	1	letargo distensión abdominal shock	sangre	<u>Strep. -hem. gpo. A</u>
2	38	3090	1	fiebre distensión abdominal vómito	LCR y sangre	<u>E. coli</u>
3	37	3100	1	letargo insuficiencia resp.	sangre	<u>E. coli</u>
4	40	3200	2	insuf. resp. letargo diarrea	sangre	<u>S. epidermidis</u>
5	40	3310	3	daño letargo vómito	LCR	<u>E. coli</u>
6	40	3435	2	letargo distensión abdominal vómito	LCR	<u>E. coli</u>
8	37-38	1910	5	fiebre diarrea	LCR	<u>E. coli</u>
9	38	1790	3	daño letargo	Pus	<u>E. coli</u>
			3	daño vómito distensión abdominal	orina	<u>E. coli</u>

De estos 9 neonatos solo 1 (caso 3) mostró una cuenta alta de neutrófilos mayor que el 97.5% para neonatos normales.

Los casos 2 y 3 tuvieron cuentas por abajo del rango de 97.5% de neonatos normales.

En los neonatos prematuros el porcentaje de células inmaduras es más alto que en los neonatos de término. 9, 93 Esta prueba que es fácil de realizar en cualquier laboratorio es de gran valor diagnóstico de sepsis neonatal.

Por otra parte Zipursky y cols.<sup>95</sup> analiza no solo la relación Banda/Segmentados sino también los cambios hematólogicos que ocurren asociados a sepsis neonatal en neonatos prematuros durante el primer mes de vida.

Se estudiaron 49 neonatos de la Unidad de Cuidados Intensivos del Mc Master University y Medical Center de Ontario Canadá.

Grupo 1) 15 neonatos con infección comprobada.

Grupo 2) 16 neonatos con infección probable,

Grupo 3) 18 neonatos sin infección.

Grupo	1	2	3
Núm. de casos	15	16	18
Semana de Gestación	30.7 ± 3.7	30.0 ± 3.0	33.0 ± 3
Peso al nacimiento g	1,551 ± 533	1,467 ± 563	1,865 ± 603
Recibieron antibióticos	15	15	10
Aumento Bandas Núm. de casos	9	4	2
Aumento de neutrófilos Núm. de casos	3	3	0
Trombocitopenia <100 000 durante la la. semana	42	3	5
Cambios hematológicos	7		
Cultivos positivos	15	2	0

Las muestras fueron tomadas por punción capilar y ocasionalmente punción venosa. El recuento de leucocitos en -- Coulter Modelo S, la tinción de May Grünwald-Giemsa, y -- para reculocitos Azul de Cresil brillante o nuevo Azul de metileno.

Las observaciones se hicieron de acuerdo al criterio:

Cuerpos de Döhle:

0= ninguno

1+ = < 25%

2+ = 25 - 50%

3+ = 51 - 75%

4+ = >75%

Granulaciones tóxicas:

0 = normal

1+ = ligeramente

2+ = aproximadamente 50% contienen gránulos oscuros

3+ = granulaciones muy densas en la mayoría de los neutrófilos.

4+ = granulaciones gruesas con núcleos oscuros.

Para las plaquetas su tamaño determinado utilizando un ocular micrométrico.

Durante la infección fueron notados los cambios en cuerpos de Döhle, vacuolas y menos en granulaciones tóxicas.

Una elevación de bandas es un dato de laboratorio de gran valor en neonatos en los que se sospecha sepsis; la neutropenia puede ser el primer signo hematológico de sepsis.

Las granulaciones tóxicas son más frecuentes en neonatos

con infección. Xantheu<sup>94</sup> en su estudio de infecciones neonatales describe las granulaciones tóxicas como un dato importante.

La causa de la trombocitopenia en infecciones bacterianas no es clara, aunque la coagulación intravascular diseminada ha sido encontrada como una causa.

En neonatos prematuros con infecciones bacterianas a menudo cambios hematológicos considerables, en el número y morfología de neutrófilos (Banda y Segmentados), desarrollan trombocitopenia frecuentemente así como también todos los cambios que se han mencionado y que son de gran ayuda en el diagnóstico de infección bacteriana.

## ERITROSEDIMENTACION (ESR)

La velocidad de sedimentación se produce debido a que la densidad de los eritrocitos es mayor que la del medio.

La velocidad de sedimentación se ha visto como una herramienta en el diagnóstico durante el período neonatal <sup>8</sup> te niendo la ventaja de ser una prueba fácil, sin tener que comprar equipo especial y eliminar la necesidad de utilizar sangre venosa.

El método de microeritrosedimentación fue descrito por Landau y Smith en 1933, pero sus datos en neonatos fueron limitados. Evans H. E. y cols. determinaron en 1970 los valores "normales" en neonatos masculinos y femeninos sanos, de bajo peso al nacimiento y de término, comparando estos resultados con 9 neonatos con infección y 21 neonatos con síndrome de insuficiencia respiratoria. <sup>24</sup>

Clasifican a los neonatos en 4 grupos:

A.- 100 neonatos asintomáticos de bajo peso al nacimiento

1080 - 2120 g,  $\bar{X}$  = 1,810, 50 masculinos y 50 femeninos

B.- 48 neonatos de término peso al nacimiento 1080-2120 g,

$\bar{X}$  = 1880 g, 24 masculinos y 24 femeninos.

C.- 30 neonatos normales de bajo peso al nacimiento, una

semana de vida 9-56 días  $\bar{X}$  28 días

D.- 9 neonatos de bajo peso al nacimiento con infecciones serias (meningitis neumococal, artritis séptica de cadera, sepsis por Klebsiella, gastroenteritis por Salmonella y E. coli, peritonitis secundaria a perforación intestinal, bronconeumonía bilateral.

El método utilizado es de Landau (1933) correlacionando con el método de Westergren 0 - 15 mm/hora.

Los resultados obtenidos se expresan en las siguientes tablas:

Percentiles de Valores Normales para micro-ESR en 100 neonatos de bajo peso al nacimiento de 3 días de edad o menos.

Percentil	ERS (mm/ 1 hora)	
	masculino *	femenino +
10	1.0	1.0
25	1.8	1.8
50	2.5	3.0
75	3.3	4.0
90	4.0	6.0
95	6.0	6.0
99	8.8	8.3

\* Hematocrito 43 - 78%  $\bar{X}$  57%

+ Hematocrito 44 - 75%  $\bar{X}$  54%

Percentil Grupo C

Valores normales para micro - ERS en 30 neonatos de bajo peso al nacimiento, edad 9 a 56 días  $\bar{X}$  28 días.

---

PERCENTIL	ESR ( mm/ 1 hora)
10	3.0
25	3.8
50	5.5
90	9.5
95	11.0

---

Hematocrito: 25 a 28%  $\bar{X}$  35%

Grupo D. micro-ERS en neonatos con infección

---

DIAGNOSTICO	EDAD días	ERS (mm/1 h)	HEMATOCRITO (%)
Meningitis neumococal	28	32	33
Gastroenteritis Salmonella	21	22	40
Peritonitis y perforación gástrica ( <u>E. coli</u> )	27	32	23
Artritis séptica de cadera	11	45	40
Septicemia por <u>Klebsiella sp</u>	22	20	19
Sepsis clínica ( <u>E.coli</u> en aspirado gástrico	2	15	54
Bronconeumonía bilateral (Flavobacterium en aspirado gástrico)	2	8	45
Neumonía "lóbulo derecho"	2	9.5	45

---

El uso potencial de esta prueba en neonatos con sepsis está demostrado por los valores elevados observados en 8 de 9 recién nacidos con serias infecciones.

Los valores normales de ERS observados en insuficiencia respiratoria idiopática puede ser de gran ayuda para diferenciar esta entidad de otros procesos infecciosos.<sup>24</sup>

El incremento en los niveles de ERS de 6.0 mm/hora a los 3 días de vida a 11 mm/h al final del primer mes (percentil 95) puede reflejar las diferencias en hematocrito 55 a 35% respectivamente. Esta variación en límites es importante en la interpretación de niveles ERS elevados pero no podría cambiar el significado de elevación marcada como se ejemplifica en 7 de 9 neonatos infectados.

De los trabajos que apoyan la utilidad de la eritrosedimentación está el grupo de Adler SM<sup>8</sup> de Montreal Canadá; efectúan determinaciones de eritrosedimentación en capilar para identificar neonatos con infección, siendo de gran ayuda las determinaciones seriadas cuando el resultado de los cultivos no es claro debido a la terapia antimicrobiana.

Se estudiaron un total de 93 neonatos de la Unidad de Cuidados Intensivos del Children's Hospital. De estos en el

grupo A se incluyen 71 neonatos no infectados.

a) 26 de bajo peso al nacimiento

b) 45 neonatos de término

este grupo proporcionó los valores "normales".

Grupo B:

9 neonatos con probable infección.

Grupo C:

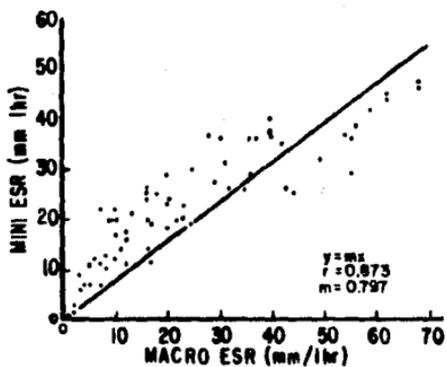
10 neonatos con infección comprobada

Grupo D:

4 neonatos con enfermedad hemolítica ABO, Coombs positivo en quienes también se comprobó infección.

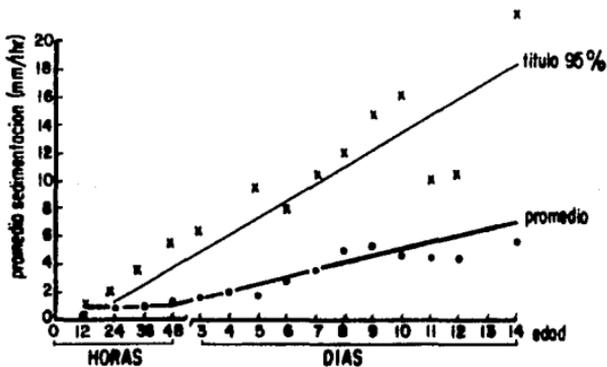
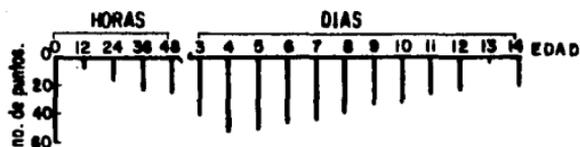
Para establecer los valores normales se comparó la técnica de Wintrobe (1935) (macrotécnica) con la de capilar de Landau (1933), con pacientes entre 8 y 18 años, siendo la técnica de Wintrobe sangre venosa y la de capilar por punción del dedo.

La relación se muestra en la figura siguiente:



Muestra la relación de la mini-ESR al ESR de Wintrobe.

En la figura se muestra la línea para los valores de 95% de la minieritrosedimentación corregida de los pacientes del grupo A:



Mejor línea de velocidad para el promedio y porcentaje 95%

En las tablas siguientes observamos tanto datos clínicos como bacteriológicos de los 19 pacientes de los grupos B y C.

DATOS CLINICOS Y CRITERIO PARA DIAGNOSTICO DE INFECCION EN PACIENTES GPOS. B Y C

PACIENTE	PESO AL NACIMIENTO	DIAGNOSTICO	VALORES MINI-ESR		ANTI-BIOTICOS	CRITERIO PARA DIAGNOSTICO DE INFECCION
			DIA	HORAS		
			INFECCION	DESPUES		
<b>GRUPO B</b>						
Gr.	2,900	Ruptura de omfalocelo	0*	21	sí	Enterobacterias del sitio de gastrotomía, distensión abdominal, vómitos biliares a las 36 horas.
Um	2,600	Onfalitis	6	20	sí	Eritema alrededor del ombligo
Kr	3,200	Infección viral de vías respiratorias aéreas	6	6	no	Flujo nasal purulento grueso, 11 días letárgico e irritable, la madre tenía infección respiratoria.
Be	1.077	Sepsis	3	18	sí	Ruptura prematura de membranas en 1 sem. Fiebre 38.2, distensión abdominal a las 12 horas
De	3,345	Meningitis	5	11	sí	Fontanela prominente, llanto y fiebre 38.4 a los 7 días, no se pudo obtener LCR
Ci	4,253	Sepsis	20	14	sí	Distensión abdominal, vómito, letargo y fiebre 39.0 DIA 3
Kra.	2,800	Gastroclisis	7+	7	sí	Eritema al día 3
LaP	2,325	Sepsis	11	15	sí	Letargo, falla respiratoria, fiebre 38 al día 8
per	2,977	Sepsis	15	25	sí	A las 36 horas ruptura prematura de membrana, cultivo de líquido amniótico y nasofaríngeo, Strep. beta.
<b>GRUPO C</b>						
Co	2,807	meconio absceso peritoneal	0	8	sí	Día 4 gangrena purulenta en el sitio de la ileostomía; Día 8 absceso encontrado a Laparatomía
Cor	1,500	Enterocolitis necrozante DIC	7	8	sí	Día 7 hemocultivo. Klebsiella
Po	1,630	Sepsis	6	8	no	Hemocultivo Strep. beta-hemol.gpo. A a las 36 horas
Ca	4,167	Obstrucción intest.aguda	11	22	no	Hemocultivo, LCR y líquido peritoneal E. coli a las 48 horas
Dup	3,250	Ruptura irritable de drenaje de	14	7	sí	Día 8 E. coli en sangre de corazón y drenaje purulento.
Fo	4,565	RDS	0	16	sí	Día 4, neumonía y derrame pleural en rayos-x.
Lan	3,520	Sepsis	2	9	no	Strep beta gpo. B en sangre y orina a las 36 horas.
LaC	1,050	RDS, sepsis DIC	1	4	sí	Pseudomonas en sangre de corazón, deterioro al día 3.
Beg	1,360	RDS, sepsis	1	15	sí	Deterioro al día 3, Pseudomonas en sangre de corazón.
Ctu	2,950	Enfermedad hemolítica ABO, diarrea	15	6	no	Deshidratación y diarrea al día 3, Salmonella en heces

\* Transferidas a la unidad de 36 horas de edad

+ Transferida a la unidad al día 5 de edad

En los 3 pacientes diagnosticados post-mortem los valores reportados son del día en que al examen clínico se observó mayor alteración.

La minieritrosedimentación volvió a sus límites "normales" al mismo tiempo de la mejoría clínica, en 5 de 8 pacientes del grupo E y en 4 de los 8 del grupo C.

El número de pruebas que requirieron corrección con la carta de Wintrobe fue pequeño comparado con el número total de determinaciones hechas (menos del 2.5%).

Los valores de los grupos B, C y D se corrigieron a hematocrito del 40% para poder comparar los grupos.

En 4 pacientes con Coombs positivo en enfermedad hemolítica ABO tuvieron marcada elevación de mini-eritrosedimentación.

La eritrosedimentación no es una prueba específica de daño tisular, es sabida su elevación en colagenosis, cáncer, infartos e infecciones<sup>8</sup>. La infección es solo una de las causas de enfermedad y muerte en el período neonatal.

La velocidad de sedimentación no ha sido aplicada sistemáticamente a los neonatos<sup>24</sup>

### INMUNOGLOBULINA M (IgM)

Las inmunoglobulinas o anticuerpos son un grupo de glicoproteínas presentes en el suero y fluidos tisulares de -- los mamíferos. Su producción es inducida cuando el Sistema Linfoide se pone en contacto con moléculas extrañas -- (Ag) y su unión es específica al antígeno que influyó su formación. 72

Como un resultado de la estimulación antigénica producida in útero, anticuerpos IgM específicos y niveles de IgM total pueden demostrarse en suero de cordón umbilical colectados de recién nacidos quienes tienen sintomatología con formas clásicas de infección congénita adquirida.<sup>5,6, 12, 36,81,91.</sup>

Los anticuerpos IgM forman una proporción mayor de respuesta primaria.

Korones y Cols.<sup>45</sup> estudiaron 564 neonatos negros del Hospital Memphis Tennessee, para evaluar asociación IgM-Infección.

Síndromes clínicos de infección aguda: conjuntivitis, neumonía, septicemia, diarrea, moniliasis oral.

Las muestras fueron de sangre de cordón y por punción capilar.

El método utilizado fue inmunodifusión radial, valores de  $< 6.0$  mg/dl fueron reportadas "no reactivas".

Los pacientes se agruparon como sigue:

Peso al nacimiento	Núm de pacientes	%
501 - 1,000	19	3.4
1001 - 1,500	44	7.7
1501 - 2,000	122	21.5
2001 - 2,500	188	33.2
> 2,500	191	33.7
Desconocidos	3	0.5

Edad gestacional semanas	Núm. de Pacientes	%
< 27	24	4.3
28 - 30	40	7.1
31 - 33	63	11.1
34 - 36	117	20.6
> 37	232	41.0
Desconocidos	91	16.0

Diagnóstico	Núm. de Pacientes	%
No enfermo	337	59.6
Infección definida	63	11.1
Infección definida con desórdenes no infecciosos	15	2.6
Sospecha de infección	28	4.9
Desórdenes no infecciosos	124	21.9

286 masculinos (50.4%)

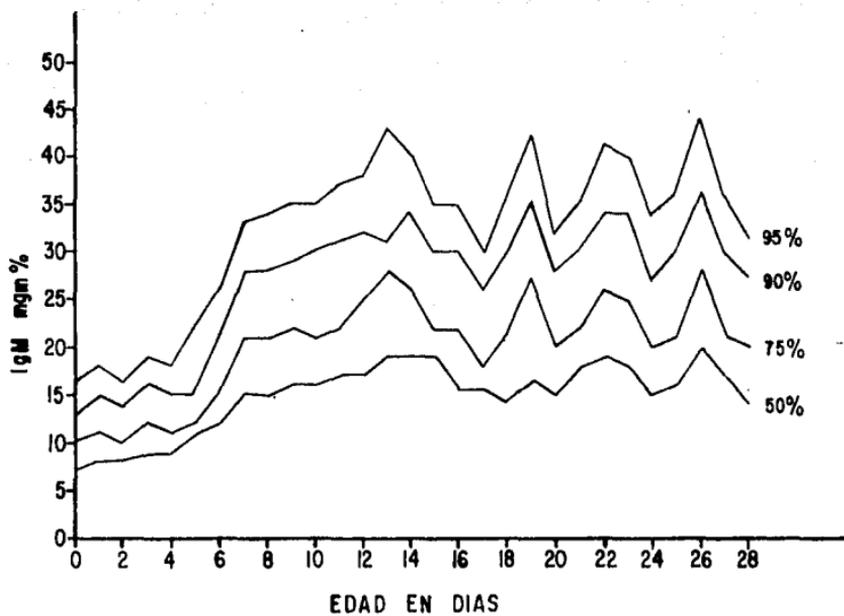
281 femeninos (49.6%)

33 pares de gemelos

2 triates

11 gemelos sin pareja

Se realizaron 2890 determinaciones de IgM. En la gráfica siguiente observamos los percentiles de 337 neonatos sanos de todos los pesos al nacer (1324 muestras).



IgM. en 337 neonatos sanos de todos los pesos al nacer. (1324 muestras.)

Se estudiaron 5 síndromes de infección:

Conjuntivitis no bacteriana (n=9)

Conjuntivitis bacteriana (n=12)

Gonococcus (5)

Staphylococcus aureus (2)

Streptococcus gpo. B. (1)

Escherichia coli (1)

Neumonía (n=11)

Septicemia (n=7)

Escherichia coli

A. aerogenes

Streptococcus gpo. B

M. polimorpha

L. monocytogenes

P. morqanii

Diarrea (n=10)

E. coli 0 111: B<sub>4</sub> (1)

Los demás agentes etiológicos desconocidos

Moniliasis oral (n=8)

Los percentiles y niveles de IgM de 57 neonatos infectados resultaron como sigue:

Infección	Núm. de Pacientes	Núm. de pacientes por percentiles				1er. día 90 percentil relacionado a la infección
		99	95	90	<90	
Conjuntivitis no bacteriana	9	7	1	0	1	2 días antes a 12 días después
Bacteriana	12	0	0	0	3	3 días antes a 6 días después
Neumonía	11	7	1	1	2	1 día a 10 días después
Septicemia	7	2	1	1	3	2 a 10 días después
Diarrea	10	2	2	2	4	5 días antes a 5 días después
Moniliasis oral	8	0	0	0	8	ninguno en percentil.

Son múltiples los factores que no han sido bien definidos que estimulan la producción de inmunoglobulinas en neonatos aparentemente sanos.

Las infecciones congénitas no están regularmente asociadas con aumentos en los niveles de IgM. Las elevaciones de IgM ocurren después de la aparición de signos físicos con pocas excepciones.

Aunque esta revisión es de infecciones bacterianas del recién nacido, no podemos desligar las infecciones virales o por parásitos (Toxoplasmosis) ya que las determinaciones como IgM específica es un indicador de infección congénita adquirida.

McCracken y cols.<sup>54</sup> demuestran concentraciones  $> 20\text{mg}\%$  en solo 18% de neonatos en quienes fue diagnosticada rubéola. Alford y cols.<sup>6</sup> en estudio de 2916 nacimientos de neonatos negros en Birmingham, Alabama, con objeto de determinar su aprovechamiento para el diagnóstico de infecciones congénitas subclínicas en recién nacidos.

Las muestras fueron suero de sangre de cordón y el método utilizado inmunodifusión radial.

Los niveles falsamente elevados se eliminaron debido a contaminación por sangre materna, se determinó IgA e --

IgM empezando de 21 a 96 horas después del nacimiento; -- los valores estuvieron alrededor de 19.5 mg/100 ml no disminuyendo en determinaciones siguientes de las consideradas elevadas.

Tan pronto como se detectaron los niveles altos de IgM se obtuvieron muestras de garganta, orina, materia fecal y ocasionalmente sangre y LCR; examinadas para virus en células diploides de pulmón.

El método de cultivo fue seleccionado para máximo aislamiento de rubeola y citomegalovirus; también las muestras se procesaron para aislamiento bacteriológico.

Los neonatos se observaron cuidadosamente durante 2 semanas después del nacimiento; se les examinó de rutina radiológicamente huesos largos, cráneo, campos pulmonares; análisis de LCR y plaquetas, además determinaciones de VDRL, FTA para sífilis; Sabin y Feldman y anticuerpos -- fluorescentes para toxoplasmosis; inhibición de hemaglutinación para rubeola. 3,6,36

Tipo de Infección	Núm. total detectado	Promedio/nacimiento
Sistémica*	26	1/112
Citomegalovirus	8	1/365
Toxoplasma	6	1/486
Rubeola	2	
Sífilis	de cada uno	1/1,485
Enterovirus		
Meningitis aséptica	4	1/729
Bacteremia	2	1/1,458
Localizada	16	1/182
Tracto urinario*	8	1/365
Diarrea por <u>E. coli</u>	3	1/972
Otros	5	1/583
TOTAL	42	1/69

\*Formas subclínicas

Estos datos sugieren que los factores intrauterinos responsables de la formación de niveles altos de IgM en sangre de cordón umbilical pueden diferir de los controles con datos bajos, aunque no necesariamente solo infecciones intrauterinas elevan los niveles de IgM.

No todas las infecciones intrauterinas pueden ser detectadas por la elevación de IgM, en algunos casos la cantidad de estimulación antigénica in útero es insuficiente. McCracken y cols.<sup>52</sup> mencionan que es común que ocurra esto con rubeola, los niveles de IgM son indistinguibles de los normales. Por esta razón las determinaciones de IgM no pueden ser usadas para excluir infecciones y como escrutinio puede ser ideal para estudios epidemiológicos. Las infecciones congénitas pueden ser una causa importante de daños mínimos cerebrales, los cuales no se clasifican especialmente en grupos socioeconómicos bajos.<sup>6</sup>

Se detectaron elevaciones de IgM en el 10% de las muestras de sangre de cordón 2 de éstos (6%) fueron considerados falsamente elevados por contaminación con sangre materna; en estos casos tanto IgM como IgA se elevaron. El examen clínico, microbiológico, serológico e inmunológico se hizo con intervalo 8 y 18 meses en el 85% de los casos. Las pruebas serológicas demostraron la persistencia de los anticuerpos específicos.

La distribución de los valores de IgM son parecidos a los obtenidos por Korones y cols.<sup>45</sup>

Los valores de IgM van de 5 a 190 mg/100 ml con una media de 11.7 y D.E. de 6.4 mg/100 ml. Los datos indican que la variables biológicas pueden influenciar en los niveles de IgM.

Se detectaron 123 neonatos con valores elevados 4.2 % de la población.

42 (34%) se detectaron infecciones

26 fueron comprobados

8 citomegalovirus

6 Toxoplasma gondii

2 rubeola

2 enterovirus

2 T. pallidum

1 Streptococcus sp. gpo. viridans.

1 E. coli.

### PROTEINA C-REACTIVA (PCR)

Tanto estímulos como daño celular, infecciones, inflamación y aún embarazo induce la producción de un grupo heterogéneo de proteínas llamadas reactantes de fase aguda; entre ellas se encuentra la Proteína C-reativa, la que ha sido estudiada intensamente como prototipo de estas proteínas. La PCR fue identificada en 1930 en el Laboratorio Avery del Instituto Rockefeller y su concentración se ha medido en una gran variedad de enfermedades, se ha considerado muchas veces como alternativa o en sustitución de la eritrosedimentación.

La medida de concentraciones de PCR en sangre originalmente basada en la precipitación de polisacárido C del neumococo o la capacidad de la PCR para hinchar la cápsula de ciertos neumococos, (reacción quelante).

En 1950, se utilizó ampliamente la precipitación en cañi-

lar con antisuero no específico introducido por H.C. Anderson y M. McCarty. Se han introducido técnicas como - Inmunodifusión radial que detecta desde 3  $\mu$ g/ml, radio-- inmunoanálisis capaz de detectar desde 3  $\eta$  g/ml, método nefelométrico que detecta agregados de PCR y anticuerpos por dispersión de luz, enzimoanálisis que combinan sensibilidad con rapidéz.

Diversos investigadores han estudiado la utilidad de de-- terminar la concentración de PCR en neonatos sanos e in-- fectados, sobre todo en estos últimos como indicadores - tempranos de infección. 26,27,33,37,41,51,63,67,68,73,74, 76,77,79,

Así Saxtsad y col. <sup>77</sup> utilizan el método de inmunodifu-- sión radial (RID) en 100 niños sanos de edades de 1 - 15 meses. De estos 98 fueron niños sanos a la exploración clínica obteniendo los siguientes resultados:

Relación entre presencia o ausencia de PCR y resultados al examen clínico.

---

PCR	Examen clínico		Total
	Positivo	Negativo	
Presente > 1 $\mu$ g/ml	1	4	5
Trazas (0.5 a 1 $\mu$ g/ml)	1	13	14
No demostrable	0	81	81
Total	2	98	100

---

Se demuestra que no hay relación evidente entre edad y concentración de PCR en niños aparentemente sanos se encontró PCR, 4 infecciones del tracto respiratorio una semana antes de recolectada la muestra.

Utilizando el mismo método (inmunodifusión radial) Sabel y cols. <sup>74</sup> hacen un estudio en niños con meningitis bacteriana y septicemia en 37 pacientes del Children's Hospital Göteborg distribuyéndose de acuerdo a la Tabla siguiente:

Concentración máxima de PCR demostrable en suero, relacionada a los cultivos de LCR y sangre.

Cultivo de LCR y sangre	Núm. de pacientes	Concentración de PCR $\mu$ g/ml					
		$\geq 100$	99-50	49-25	24-10	huellas ausente	
<u>E. coli</u>	12	6	5			1	
<u>H. influenzae</u>	8	2	3	1	1	1	
<u>Pneumococcus</u>	2	1			1		
<u>Meningococcus</u>	2	1			1		
<u>Streptococcus</u> $\alpha$	3	1			2		
<u>S. aureus</u>	3	2		1			
<u>Listeria</u>	2					2	
TOTAL	32	13	8	2	5	4	0
Meningitis purulenta sin demostración bacteriana	5	1	1	1	1	1	
Total con infección verificada o sospechosa	37	14	9	3	6	5	0

Los valores  $\geq 50 \mu$ g/ml se encontraron en 2/3 de los casos con meningitis o septicemia comprobada. El patrón más uniforme de valores altos de PCR se observó en 12 de 12 casos con E. coli (55-500  $\mu$ g/ml  $\bar{x}$  162  $\mu$ g/ml) mientras que un caso de septicemia e infección de tracto urinario por E. coli solo se observaron huellas.

Los 7 pacientes neonatales con infección por E. coli presentaron los niveles altos de PCR ( $\bar{X}$  = 198  $\mu$ g/ml).

Los valores más dispersos se observaron en 20 pacientes con infección bacteriana de otra etiología. Seis de éstos fueron neonatos, 2 infectados con Staphylococcus aureus, 2 con Streptococcus y 2 con Listeria monocytogenes los neonatos mostraron concentraciones variables de PCR con un máximo de 16 - 119  $\mu$ g/ml exceptuando los dos con Listeria. De los 5 casos con meningitis purulenta no se verificó su etiología bacteriana. Uno de estos pacientes fue neonato con 170  $\mu$ g/ml de PCR.

De los 14 casos de septicemia o meningitis en el período neonatal, el incremento de PCR ( $\bar{X}$  = 10  $\mu$ g/ml) fue de 87%. Félix y col. <sup>26</sup> determinan concentraciones de PCR en los primeros seis meses de vida, utilizando el método de precipitación en capilar, con 2 marcas comerciales de reactivos Schieffelin y Crescent, al mismo tiempo que comparan estas 2 marcas comerciales proporcionan datos de niños de 0 a 6 meses de vida sanos, con sospecha de infección y con infección comprobada.

Se procesaron 66 muestras de sangre de cordón y 669 muestras de 266 niños aparentemente normales de acuerdo a los datos siguientes:

Edad	Sangre Cordón	<1 semana	1 semana <1 mm	1 mes- 6 meses mm
Núm. de muestras.	66	496	99	385
Negativo	65 (98%)	244 (49%)	94 (95%)	377 (98%)
Positivo	1 (1.5%)	252 (51%)	5 ( 5%)	8 ( 2%)
< 1 mm	1 (1.5%)	77 (15.5%)	2 (2%)	6 (1.5%)
1 mm	0	156 (31.5%)	3 (3%)	2 (0.5%)
2 mm	0	17 ( 3.6%)	0	0
3 mm	0	2 ( 0.4%)	0	0
≥ 4 mm	0	0	0	0

Los datos en niños sanos, enfermos con infección y enfermos sin infección son:

Grupo	Sanos	Enfermos	
		con infección	sin infección
Núm. total	980	121	145
Negativo	715 (73%)	34 (28%)	128 (88%)
Positivo	265 (27%)	87 (72%)	17 (12%)
1mm	246 (25%)	20 (17%)	5 (4%)
2mm	17 (1.8%)	21 (17%)	3 (2%)
3mm	2 (0.2%)	19 (16%)	6 (4%)
≥4mm	0	27 (22%)	3 (2%)

Estos datos agrupados por edades tenemos:

Edad	1 semana		1 semana < 1 mes		1-6 meses	
Grupo	Sano c/infección		Sano c/infección		Sano c/infección	
Núm. total	496	23	99	29	385	69
Negativo	244 (49%)	5 (22%)	94 (95%)	7 (24%)	377 (98%)	22 (32%)
Positivo	252 (51%)	18 (78%)	5 (5%)	22 (76%)	8 (2%)	47 (68%)
1mm	233 (47%)	2 (8.5%)	5 (5%)	3 (10.5%)	8 (2%)	15 (22%)
2mm	17	3	0	6	0	14
3mm	2	6	0	6	0	7
≥4mm	0	7	0	7	0	13

Todos los pacientes con infección severa tales como septicemia, peritonitis y osteomielitis tuvieron reacciones de  $\geq$  2mm.

Una reacción de 10mm fue de septicemia con meningitis por Listeria monocytogenes.

El 50% de los pacientes tuvieron reacción positiva en la primera semana de vida, rápidamente decrece después de este período así 1 a 6 meses la incidencia fue del 2%, en la mayoría la intensidad de la reacción positiva fue de lmm. Dos tercios del número con infección tuvieron reacciones positivas.

La proteína C-reactiva está presente en una variedad de condiciones, por lo que no se puede considerar como indicador de infección en forma aislada, sino con otros parámetros y los datos clínicos del paciente, es decir que es una buena prueba pero con ciertas limitaciones.

En trabajos más recientes Adhikari (1986) nos muestra el valor predictivo de la PCR en septicemia neonatal y en neonatos no septicémicos, incluye varios parámetros: Hb, cuenta total de leucocitos y cuenta diferencial, eritrosedimentación, cuenta de plaquetas, PCR, Inmunoglobulinas C3, y Hp.

43 neonatos de bajo peso al nacimiento con datos clínicos de septicemia. Los hemocultivos fueron positivos en 19 y en 24 neonatos fueron negativos.

La mortalidad fue de 53% en los cultivos positivos y 13% con cultivos negativos.

La PCR fue medida por aglutinación en placa látex. El título fue más elevado en cultivos positivos (16/19) que en cultivos negativos (7/17) ( $p < 0.001$ )

El título de PCR (media  $\pm$  2 D.E.  $15.75 \pm 12$  en cultivos positivos y  $6.13 \pm 11.72$  en cultivos negativos ( $p \leq 0.0004$ ))

Títulos positivos de PCR fueron encontrados en 5 de 20 - neonatos sanos grupo control  $4 \pm 8.4$  . Mather y cols.<sup>51</sup> estudiaron 250 neonatos y 10 casos consecutivos con cultivos comprobados de septicemia neonatal.

Las determinaciones cuantitativas de PCR, cuenta de leucocitos y diferencial fueron obtenidas entre 10 a 14 horas y 22 - 26 después de su ingreso.

Utilizando los signos clínicos, rayos X, hemocultivo, aspirado traqueal obtenido dentro de las 4 horas después del nacimiento y la relación Banda/Segmentados (B/S), los neonatos infectados fueron definidos en grupos como sigue:

Número de casos

19 Septicemia, cultivo positivo

35 Septicemia clínica

28 Neumonía congénita

La sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo

y positivo fue calculado para cada grupo.

Ningún neonato tuvo PCR más de 6 mg/l. La elevación de concentraciones de PCR en la mayoría fue aproximadamente de 12 - 24 horas después detectándose antes la relación anormal B/S; La especificidad de los niveles de PCR  $\geq 10\text{mg/l}$  permanecen aproximadamente constante (97-94%) mientras que la sensibilidad se incrementa de 22 a 61% horas después. El mismo patrón se consideró en cada grupo.

El valor predictivo positivo para concentraciones de PCR  $10\text{mg/l}$  22-26 horas después fue de 83% y el valor predictivo negativo 82%.

La PCR no tiene un valor diagnóstico temprano de infección neonatal, su papel permanece relacionado a la confirmación o exclusión de infección 24 horas después de la sospecha clínica.

Utilizando otros métodos de determinación de concentraciones de PCR, Forest y cols. <sup>27</sup> en ensayos automatizados estudia 127 neonatos.

Prematuros 114

De término 13

Que clasifica en 3 grupos:

- 1) Neonatos con curso clínico normal postnatal n= 69
- 2) Neonatos con sospecha clínica de infección bacteriana pero cultivo negativo n= 49
- 3) Neonatos con infección comprobada n= 9

Se efectuaron en total 545 determinaciones de PCR.

Grupo 1. Los resultados obtenidos por abajo de la detección del límite del método 10 mg/l; a excepción de 1 neonato que sufrió complicaciones en el curso clínico (PCR 31 mg/l) dentro de las 24 horas de vida.

Grupo 2. 33 neonatos tuvieron PCR 100 mg/l en tanto que 16 se elevaron 10 a 70 mg/l

Grupo 3. Todos los neonatos tuvieron concentraciones elevadas de PCR 80mg/l; de estos 4 neonatos con septicemia, 1 neonato con neumonía, 1 neonato con microabscesos múltiples y 3 con infección de tracto urinario.

Indudablemente que la determinación de concentración de PCR es un buen indicador de infección bacteriana, pero el médico deberá manejarla de acuerdo a sus datos clínicos y demás parámetros.

Como se ha mencionado la PCR es del grupo de reactivos ampliamente estudiados por lo que la metodología también se ha aplicado en gran variedad, de éstos el radioinmunoanálisis en fase sólida utilizado por Gray y cols.<sup>33</sup> las determinaciones las hacen en LCR de 49 pacientes con meningitis bacteriana comprobada, con cultivos positivos con un rango de 0 - 51000 ng/ml (media 1460 ng/ml) 33 pacientes con meningitis aséptica, en los que se obtuvieron valores mucho más abajo de 0 - 438 ng/ml (media 17 ng/ml)

En pacientes con pleocitosis (más de 10 leucocitos en LCR).

En los valores de PCR 100 ng/ml la exactitud en identificación de meningitis bacteriana fue de 95%; sin embargo, algunos pacientes con meningitis bacteriana tuvieron niveles bajos de PCR.

La medida de PCR en LCR es potencialmente útil pero con limitaciones en cuanto a muestras y equipo para radioinmunoanálisis.

**SUERO OROSOMUCOIDE.**

Es una mucoproteína de interés clínico y forma parte del grupo de pruebas de ayuda diagnóstica en infecciones bacterianas del recién nacido.

Gotoh y cols.<sup>31</sup> realizan un estudio en 90 neonatos del Hospital General de Nagoya Japón. Utilizando el método de inmunodifusión radial, ensayan 342 sueros obtenidos por punción capilar o sangre de cordón obtenida al nacimiento, en diferentes días y semanas después del nacimiento.

Distribuyen su población en 7 grupos:

---

Diagnóstico	Núm. de casos	Grupo
Neonatos normales de término	10	1
Neonatos normales pretérmino	20	2
Meningitis purulenta	10	3
Septicemia	10	4
Neumonía	10	5
Enterocolitis necrozante	5	6
Enterocolitis acompañada con		
Enfermedad Hirschsprungs	5	
Infecciones de tracto urinario	3	
Panperitonitis después de per		
foración intestinal	2	
IRDS	10	7
Síndrome de Wilson Uikity	5	
TOTAL	90	

---

De estas determinaciones la de suero orosomucoide parece ser de utilidad diagnóstica para infecciones en el neonato.

## HAPTOGLOBINA (Hp)

La síntesis de proteína de fase aguda empieza muy temprana en la vida fetal alrededor de la 8a. a 9a. semana.

La Hp es una glicoproteína presente en el plasma y otros fluidos biológicos, se encuentra en varias formas genéticas muchas de las cuales son polímeros de la misma sustancia básica. Tipos genéticos homocigos Hp 1-1, Hp 2-2 y un heterocigo Hp 2-1.

Su función biológica está asociada con las vías metabólicas de la hemoglobina (Hb) la cual se libera cuando el eritrocito se rompe, además transporta Hb al sistema retículo endotelial. Sin embargo, la Hp por sí misma no tiene un papel decisivo en el metabolismo de la Hb.

Otra importante función biológica está asociada como reactante de fase aguda por inflamación, trauma o alguna destrucción celular.

Cuando los eritrocitos con Hb fetal son destruidos la Hp transporta la Hb fuera de la circulación. El hígado del neonato no ha desarrollado su capacidad máxima de función enzimática o síntesis de proteínas, en recién nacidos los niveles de Hp son bajos comparados con los del adulto.

Existen además factores fisiológicos que influyen en la concentración de haptoglobina.

- a) Factores genéticos
- b) Sexo; en la mujer es más bajo que en el hombre
- c) Edad; se incrementa con la edad.

Son varias las preguntas planteadas para la utilidad de la determinación de Hp.

¿Qué método es el mejor? (exacto y rápido)

¿Los valores de referencia en el período neonatal y los cambios durante los primeros días de vida?

¿Su concentración proporcionará datos de infecciones neonatales intrauterinas o postnatal?

Correlación entre hemólisis y concentración de Hp.

¿Cuál es el valor clínico en exanguíneo transfusión?

Lundh y cols. (1970) investigaron niveles de Hp en enfermedad hemolítica del recién nacido, y observaron que los niveles de Hp se elevan hasta alcanzar los valores del adulto (40 - 180 mg/dl) en exanguíneo-transfusión y baja a sus niveles normales a las 12 horas.

Salmi TT<sup>75</sup> estudia también 140 recién nacidos normales. 50 con exanguíneo-transfusión y 51 con infección congénita, en el Children's Hospital University Helsinki, el

método utilizado fue el presentado por Tarukoski (actividad de peroxidasa) que da un rango de 5 - 300 mg/dl. La hemoglobina libre no hace al método inexacto, pudiéndose examinar también las muestras hemolizadas.

Salmi obtiene los siguientes resultados:

Neonatos sanos:

Sangre de cordón 8.2 mg/dl

0-3 días  $26.3 \pm 19.9$  mg/dl

Neonatos exanguinados:

Antes de la transfusión:  $82.3 \pm 38.1$  mg/dl

Después:  $21.4 \pm 11.9$  mg/dl

Infección intrauterina:

0 - 2 días  $54.2 \pm 33.5$  mg/dl

1 semana  $83.8 \pm 62.5$  mg/dl

3 - 4 semanas 55.0 mg/dl

En la siguiente tabla se analizan las concentraciones de Hp en neonatos con infección:

Tabla I Concentración de haptoglobina en neonatos con infección, g/l (HbC)

Tipo de infección		1-2	3-7	Edad en días 8-14	14	Total
Infección Intrauterina	Concentración de Hp	0.71	0.92	0.54	0.84	0.72
	SD	0.33	0.48	0.24	0.50	0.40
	promedio	0.28-1.60	0.30-1.65	0.36-1.35	0.22-0.70	0.22-1.65
	n	14	9	6	8	37
	significancia para comparación de grupo	xxx	xx	x	x	xxx
Infección postnatal	Concentración de Hp	0.60	1.09	0.91	2.06	0.99
	SD	0.45	1.67	0.87	1.18	1.31
	promedio	0.14-2.28	0.14-3.08	0.21-3.05	0.40-3.12	0.14-3.12
	n	23	49	20	7	99
	significancia para comparación de grupo	xxx	xxx	xx	xx	xxx
Septicemia	Concentración de Hp	0.77	1.40	1.53	1.77	1.42
	SD	0.58	0.86	0.65	2.09	1.14
	promedio	0.23-2.19	0.31-3.20	0.37-3.05	0.29-2.94	0.23-3.20
	n	6	14	12	8	40
	significancia para comparación de grupo	ns	xxx	xxx	ns	xxx
Sospecha de infección	Concentración de Hp	0.32	0.73	0.53	0.23	0.54
	SD	0.24	0.56	0.90	0.11	0.57
	promedio	0.09-0.70	0.12-0.98	0.10-1.60	0.15-1.48	0.09-1.60
	n	16	24	9	3	52
	significancia para comparación de grupo	ns	xxx	ns	ns	xxx
Comparación de grupo	Concentración de Hp	0.20	0.24	0.18	0.16	0.20
	SD	0.08	0.14	0.07	0.07	0.11
	promedio					
	n	168	130	76	8	432

xxx = estadísticamente la diferencia es significativamente alta

xx = estadísticamente la diferencia es significativa

x = estadísticamente la diferencia es poco significativa

ns = estadísticamente la diferencia es no significativa

Dependiendo del método así será el porcentaje en que se detecte la Hp en neonatos por ejemplo: gel de electroforesis en sangre de cordón se encuentra solo el 20% de los casos; activación de peroxidasa en 60 - 70% de los casos. La edad gestacional no tiene influencia en la concentración de Hp de los neonatos o en las variaciones de los niveles después del parto. Las concentraciones de Hp se incrementan rápidamente día a día.

#### ASOCIACION DE DOS O MAS PARAMETROS DE LABORATORIO.

Aunque se han evaluado indicadores indirectos de infección bacteriana neonatal, se ha demostrado solo el uso de pocos parámetros.

Se ha prestado poca atención a reactantes de fase aguda como antitripsina <sup>30,38</sup> resultando tan importante como la Proteína C-reactiva y Haptoglobina.

Speer y cols. <sup>79</sup> hacen determinaciones secuenciales de PCR Hp y  $\alpha_1$ -antitripsina como indicadores tempranos de diagnóstico de infección neonatal, el método que utilizan es inmunodifusión radial.

En 312 neonatos pretérmino y de término de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario de Göttingen, Alemania del Este. De los 312 neonatos se excluyeron 43 por no llenar los criterios de: Más de 2 días de hospitalización, muestras para hemocultivo y PCR tomadas el mismo día, muestras tomadas antes de los antibióticos, neonatos que tenían laceraciones, cefalohematomas, etc. Las determinaciones se hicieron los primeros 7 días de vida; 0.035 ml de suero fueron suficientes para la detex

minaciones.

Los 124 neonatos pretérmino y 145 de término se dividieron en 3 grupos:

1. Pretérmino (4), de término (8) con sepsis o meningitis probada. Cultivo positivo de sangre o LCR.
2. Pretérmino (14) y de término (12) con sospecha de infección (sepsis o meningitis). Los cultivos de LCR y hemocultivos fueron negativos. Estos neonatos presentaron cuando menos dos factores de alto riesgo:  
a) ruptura prematura de membranas, fiebre materna, parto prematuro, b) signos clínicos de sepsis, c) menos de  $10 \times 10^9/1$  leucocitos en el primer día de vida. Todos estos neonatos fueron tratados con antibióticos.
3. Neonatos pretérmino no infectados (106) y de término (127) el curso clínico fue sin signos de infección.

El suero fue fresco o conservado a  $-30^{\circ}\text{C}$ . Las determinaciones fueron por inmunodifusión radial (RID) de acuerdo a Behring Werke. Se preparó una curva de referencia para cada proteína.

PCR. En los neonatos no infectados (127) de término; durante los primeros días de vida 90% de los pacientes te-

nían valores de  $< 6\text{mg/l}$  o sea límites bajos de detección por RID.

En los neonatos no infectados (106) pretérmino muestra una distribución similar; así pues no hubo correlación entre la edad gestacional y concentración PCR.

En el grupo 1 se nota elevación de los niveles de PCR los que decrecen después de iniciar tratamiento, lo mismo acontece en el grupo 2.

Hp. Cerca del 50% de neonatos de término no infectados tenían valores de Hp de  $< 0.25\text{ g/l}$ ; no hubo diferencia entre los neonatos pretérmino y de término.

En el grupo 1 solo 3 de 7 neonatos de término no tenían concentraciones alrededor del rango normal.

$\alpha$ -1-antitripsina. El rango "normal" fue de  $5\text{ g/l}$ ; no hubo diferencia entre los grupos de término y pretérmino de recién nacidos. De los pacientes con sepsis probada pocos tuvieron ligero incremento en los niveles de  $\alpha$ -1-antitripsina.

La determinación cuantitativa de  $\alpha$ -1-antitripsina y Hp han sido sugeridas para facilitar probar o excluir sepsis.

Se ha enfatizado que la "eficacia" de una prueba diagnóstica es la habilidad para indicar presencia o ausencia de enfermedad.

En las infecciones de recién nacidos como podemos saber, ¿con una prueba positiva la enfermedad está presente o con una prueba negativa la enfermedad está ausente?

Alestairs y cols. <sup>10</sup> en su trabajo de diagnóstico temprano de sepsis neonatal integran varias pruebas obteniendo los datos siguientes:

Resultados de pruebas individuales (comparando 2 ó más Positivas) en 30 casos de Sepsis Neonatal probable de 376 neonatos de población de alto riesgo en la primera semana de vida.

PRUEBA	Total positivas	Pruebas positivas con sepsis comprobada	Sensibilidad %	Especificidad %	% Exactitud Predictiva Positiva
Banda/Segmentados $\geq 0.2$	103	27	90	78	26
Leucocitos $< 5000/mm^3$	37	15	50	94	40
PCR positivo	64	14	47	86	22
Hp positivo	28	9	30	95	32
Minieritro sedimentación $\geq 15/la. hora$	21	9	30	97	43
2 ó más positivas	71	28	93	88	39

Donde 71 pruebas positivas (2 ó más pruebas positivas), 28 (39%) estuvo asociada con sepsis probada, incidentalmente otros 16 (23%) tenían "muy probable" infección sistémica y 3 infección viral probada.

La probabilidad de sepsis depende no solo del valor verdadero o falso positivo sino de la asociación de dos ó más parámetros.

## M E T O D O L O G I A

DETERMINACIONES EN SANGRE DE CORDON DE NEONATOS SANOS

DETERMINACION	METODO	VALORES DE REFERENCIA
BUFFY-COAT	Tinción de Gram Azul de Metileno Naranja de Acridina	Negativo
BANDAS	Tinción Wright	Núm.absoluto 358
NEUTROFILO SEGMENTADO	May-Grünwald Giemsa	5460 Núm. absoluto
RECUESTO DE LEUCOCITOS	Contador Coulter	
MINIERITROSEDIMENTACION	Westergreen Wintrobe	$\leq 15$ mm/1a. hora
IgM	Inmunodifusión radial Nefelometría	$< 6$ mg/dl $< 6$ mg/dl
PCR	Látex Precipitación capilar Inmunodifusión radial Nefelometría Enzimoanálisis	6mg/dl $< 1$ mm $< 1,7$ g/ml
PCR (LCR)	Radioinmunoanálisis	0 ng/ml
$\alpha_2$ - glicoproteína (Orosomucoide)	Inmunodifusión radial Nefelometría	$8 \pm 4$ mg/dl
HAPTOGLOBINA	Inmunodifusión radial	$8 \pm 2$ mg/dl

## BUFFY-COAT

### Tinción de Gram y Azul de Metileno

El azul de metileno es de más ayuda en demostración de E. coli, porque el microorganismo se tiñe de azul oscuro.  
27

Las tinciones de Gram fueron menos efectivas para detectar gramnegativos, pero sí más efectivos para grampositivos.

## NARANJA DE ACRIDINA

Las técnicas de inmunofluorescencia combinan métodos histoquímicos e immunoquímicos para precisar complejos antígeno-anticuerpo presentes en secciones de tejido, frotis de células teñidas con ayuda de sustancias fluorocromos conjugados al anticuerpo.

El fluorocromo naranja de acridina <sup>44</sup> tiñe ácidos nucleicos, células somáticas, bacterias y otros microorganismos. Kronwall y Mihre encuentran que el naranja de acridina a pH 3.5 - 5.0 tiñe bacterias de naranja brillante y las células en contraste de amarillo y verde pálido siendo fácil y rápida la observación.

#### TINCIÓN MAY-GRÜNWALDGIEMSA

##### Banda:

Se define como un neutrófilo en el cual el ancho y lo angosto del segmento del núcleo no es menor de un tercio del ancho del segmento total. 95

##### CUERPOS DE DÖHLE:

Son agregados de retículo endoplásmico los que se tiñen de azul con la tinción de May-Grünwald Giemsa. 95

##### GRANULACIONES TOXICAS:

Gránulos oscuros que varían en tamaño

##### VELOCIDAD DE SEDIMENTACION:

La velocidad de sedimentación se produce debido a que la densidad de los eritrocitos es mayor que la del medio.

En 1924 Westergren ideó un método para medir la velocidad de sedimentación. En un tubo especial de 30 cm de longitud abierto en los extremos y una gradilla para fijar el tubo en forma vertical.

Wintrobe utiliza un tubo con dos graduaciones a los lados una en forma ascendente y otra en forma descendente de 0 -100.

En los dos métodos los valores se afectan por el hematocrito y se han ideado métodos para corrección.

La modificación al método hecha por Landau, utiliza pipetas Clay-Adams y citrato de sodio al 5%, la muestra es por punción capilar.

**LATEX:**

Las moléculas inertes biológicamente de poliestireno látex son sensibilizadas con anti-PCR, obtenida de animales por medio de inmunizaciones. La PCR presente en el suero del paciente sirve como antígeno y cuando el suero conteniendo PCR se mezcla con el látex sensibilizado se produce una aglutinación detectable macroscópicamente.

**PRECIPITACION CAPILAR:**

La precipitación del antígeno y anticuerpo en soluciones se mezcla en un tubo capilar (en cantidades que dependen de las instrucciones del fabricante), se deja reposar vertical y se lee el precipitado que se mide en mm.

**INMUNODIFUSION RADIAL:**

En una placa de agar se incorpora un antisuero específico.

El suero problema (directo o diluído dependiendo de la marca comercial) se coloca dentro del pozo en el gel de modo que pueda difundir radialmente en el agar combinar se con el antígeno y formar una zona concéntrica de pre

cipitación de acuerdo a la concentración. Se colocan estándares de concentración conocida para trazar una curva y poder interpolar los valores desconocidos.

#### NEFELOMETRIA:

La velocidad de formación de complejos antígeno anticuerpo en solución se mide ya sea por turbidimetría o nefelometría.

A concentración constante de anticuerpo, el incremento del tamaño y número de complejos es directamente proporcional a la concentración del antígeno, a todo lo largo de una escala de moderado a exceso de anticuerpo .

La variación de la dispersión luminosa en función de tiempo, puede por lo tanto relacionarse con la concentración inicial de antígeno. Se compara con material de referencia conocido para obtener el resultado final. Los datos pueden procesarse manualmente o mediante gráficas no lineales preestablecidas.

#### ENZIMOANALISIS:

El enzimoimmunoanálisis es el que se emplean anticuerpos y antígenos marcados con enzimas, es el método más reciente

te de reactivos marcados. En principio el ELISA es utilizable para el análisis de cualquier anticuerpo, si el antígeno adecuado se puede inmovilizar convenientemente en una fase sólida.

#### RADIOINMUNOANALISIS:

En este método los antígenos y/o anticuerpos se marcan con radioisótopos y la cuenta se hace en un contador especial.

La medida de PCR es potencialmente útil pero con limitaciones.

## DISCUSION Y COMENTARIOS

La septicemia que no se trata en el periodo del recién nacido generalmente tiene un pronóstico fatal.

Actualmente existen varios parámetros de Laboratorio para el diagnóstico de infección bacteriana en el recién nacido, tales como:

Buffy-Coat que es una determinación fácil y rápida, dando al clínico una información importante y oportuna.

Leucocitos en la que se determina la relación Banda/Segmentados y que se procesará al tiempo que el Buffy-Coat.

Eritrosedimentación, técnica capilar que no lleva mucho tiempo de montarla y que en 60 minutos tenemos el resultado.

Determinaciones de IgM, PCR, Haptoglobina y Suero Orosomucoide cuya rapidez del resultado va a depender de las técnicas empleadas y de los reactivos comerciales con que cuente el Laboratorio (ya sea Inmunodifusión radial, látex, precipitación en capilar, nefelometría, radioinmunoanálisis (RIA), enzimoanálisis).

De la revisión hecha se deduce que se debe hacer una valoración clínica exhaustiva y adecuada del recién nacido teniendo en cuenta los antecedentes de la madre y naturalmente los estudios perinatales; una vez efectuado esto y un diagnóstico presuntivo, las determinaciones de Laboratorio juegan un papel primordial en el diagnóstico definitivo y en el pronóstico del recién nacido infectado, sin olvidar que los resultados óptimos que el clínico espera dependen de que los estudios solicitados sean los idóneos, es decir de acuerdo al diagnóstico presuntivo. Así pues después de haber analizado cada una de estas pruebas, es importante el darse cuenta de que son de gran apoyo para la confirmación de una infección bacteriana, habiéndose comprobado mediante los estudios bacteriológicos.

Se concluye que se debe manejar más de una prueba y que

el Laboratorio debe estar en estrecha comunicación con el clínico para la optimización en la interpretación de las pruebas de Laboratorio.

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

- 1.- ALFONSO A: Determination of serum Haptoglobin by electrophoresis on plaster of Paris. Clin.Chim.Acta 22:466, 1968.
- 2.- ALFORD CA: Studies of antibody in congenital rubella infections, Am.J.Dis.Child. 110,455, 1965.
- 3.- ALFORD CA, BLANKENSHIP WJ, STRUMFJORD JD, CASSADY: The diagnostic significance of IgM globulin. Elevations in newborn infants with chronic intrauterine infections. Intrauterine infections, Birth Defects Original Article Series, Vol.4, No.7 p5, 1968.
- 4.- ALFORD CA, NEVA FA, WELLA TH: Virologic and serologic studies on human products of conception after maternal rubella, New England J. Med. 271: 1275, 1964.
- 5.- ALFORD CA, SCHAEFFER J, BLANKENSHIP WJ, STRAUMFORD JV, CASSADY G: A correlative Immunologic, microbiologic and clinical approach to the diagnosis of acute and -

chronic infections in newborn infants, N.Engl.J.Med.  
277:437, 1967.

- 6.- ALFORD CHA, FOFOT JW, BLANKENSHIP WJ, CASSADY G. BEN  
TON JW: Subclinical central nervous system disease of  
neonates: A prospective study of infants born with  
increased levels of IgM, J Pediatr. Vol.75, No.6,  
part.2, 1167-1178, Dec. 1969.
- 7.- ACKERMAN BD: Congenital syphilis: Observations of la  
boratory diagnosis of intrauterine infections, J.Pe-  
diat. 74:459, 1969.
- 8.- ADLER SM, DENTON RL: The erythrocyte sedimentation  
rate in the newborn period, J.Pediatr.86:942,1975.
- 9.- AKENZUA GI, HUI YT, MILNER R: Neutrophil and counts  
in the diagnosis of neonatal infections, Pediat.  
54:38, 1974.
- 10.- ALISTAIR GS FRCP(E) DCH, HWEITTM JR, BS, PHILIP MB:  
Early diagnosis of neonatal sepsis, Pediat. Vol.65  
No. 5:1036-1041, 1980.
- 11.- ARTENSTEIN MA, BELLANTI JA, BUESCHER EL, LURHRS CE,  
MILSTEAD KL, OLSON LC: Congenital rubella, Am.J.Dis.  
Child. 110:464, 1965.
- 12.- BENIRSCHKE K: Routes and type of infection in the  
newborn, Amer.J.Dis.Child., 99:714, 1960

- 13.- BENIRCHKE K, CLIFFORD S: Intrauterine bacterial infection of the newborn infant. Frozen section of the cord as an aid to early detection. J.Pediat.54:11 1959.
- 14.- BENNETT II, BEESON P: Properties and biologic effects of bacterial pyrogens. Medicine, 29:365, 1950.
- 15.- BLANKENSHIP WJ, CASSADY G, SCHAEFFER J, STRAMMFJOR JV, ALFORD CA: Serum gamma-M globulin responses in acute neonatal infections and their diagnostic significance. J.Pediat.,75:1272, 1969.
- 16.- BLANE WA: Amniotic infection syndrome, Clin.Obstet Gynee, 2:705, 1959.
- 17.- BOYLE RJ, CHANDLER BD, STONESTREET BS, OH W: Early identification of sepsis in infants with respiratory distress. Pediat. 62:744-50, 1978.
- 18.- BRANTON L: Neonatal mortality with special reference to infections causes of death. Amer.J.Med.Sci.,238: 760, 1959.
- 19.- BROOKS GF, PRIBBLE AH, BEATH HN: Early diagnosis of bacteremia by buffy coat examinations. Arch.Intern. Med.132:673, 1973.
- 20.- BUTLER NR, DUDGEON JA, HYES K, PECKHAM CS. WYBAR K: Persistence of rubella antibody with and without em-

bryopathy-A follow up study of children exposed to maternal rubella. Brit. M.J.2:1027, 1965.

- 21.- DIETZMAN DE, FISCHER GW, SCHOENKNECHT FD: Neonatal Escherichia coli septicemia-bacterial counts in blood J Pediatr.85:128, 1974.
- 22.- DUDGEON JA: Congenital defects: virus infections, Proc.Roy.Soc.Med.61:991, 1968.
- 23.- EICHENWALD HF, SHINFIELD HR: Antibody production by the human fetus. (Abst).J.Pediatr.63:870, 1963.
- 24.- EVANS HE, GLASS I, MERCADO C: The microerythrocyte sedimentation rate in newborn infants. J.Pediatr.76: 448, 1970
- 25.- FADEN HS: Early diagnosis of neonatal bacteremia by buffy-coat examination. J.Pediatr.88:1032, 1976.
- 26.- FELIX NS, NAKAJIMA H, KAGAN BM: Serum C-reactive - protein in infections during the first six months of life.Pediatrics 37:270-77, 1966.
- 27.- FOREST JC. LARIVIERE F, DOLE, MASSON M, NADEAU L: C-reactive protein as biochemical indicator of bacterial infection in neonates. Clin.Biochem.19(3): 192-4, 1986.
- 28.- FORMAN ML, STEIM ER: Impair opsonic activity but normal phagocytosis in low birth weight infants, N.Engl.

J.Med.281:296, 1969.

- 29.- FULGINITI VA: Bacterial infections in the newborn infant. J.Pediatr 76:646, 1970.
- 30.- GOBEL U, PETRICH C, VON VOSS H, SCHMELZER L: Alpha 1-antitrypsin and alpha-2-macroglobulin in newborn infants.E.J Pediatr.129:117-24, 1978.
- 31.- GOTH H, ISHIKAWA N, SHLOIRI T: Diagnostic significance of serum orosomucoid level in bacterial infections during neonatal period. Acta Pediat.Scand. 62:629-632, 1973.
- 32.- GOTOFF SP, BEHRMAN RE: Neonatal septicemia J.Pediatr. 76:142, 1970.
- 33.- GRAY BM, SIMMONS DR, BARNUM S, VOLANAKIS JE: Quantitative levels of C-reactive protein in cerebrospinal fluid in patients with bacterial meningitis and other conditions, J.Pediatr.May:108(5 PT1): 665-70. 1986.
- 34.- GREGORY J, HEY E: Blood neutrophil response to bacterial infection in first month of life. Arch.Dis. Child. 47:747, 1972.
- 35.- HAIDER SA: Serum IgM in diagnosis of infection in the newborn, Arch.Dis.Child.47:382, 1972.
- 36.- HANSHAW JB: Congenital cytomegalovirus infection, in

"Intrauterine infections, Birth Defects" Original  
Article Series. Vol. IV, No.7 p.39, 1968.

- 37.- HANSON LA, NILSSON LA: Studies in C-reactive protein during the pre and neonatal period. Acta Path.Microbiol.Scand.56:409, 1962.
- 38.- KARITZKY D: Alpha-1-antitrypsin in septic infections during infancy. Z Kinderheilk 117:281-89, 1974.
- 39.- KHAN WN, ALI RV, WETHMANN M, ROSS S: Immunoglobulin M determinations in neonates and infants as an adjunct to the diagnosis of infection J.Pediatr 75:1282 1969.
- 40.- KINDMARK CO: The concentration of C-reactive protein in sera from healthy individuals.Scand J.Clin.Lab. Invest. 29:407-11, 1972.
- 41.- KISBAN G, BARTALICS L, KORANYI G: Diagnostic value of C-reactive protein in premature babies weighing less than 1500 g. Acta Pediatr Hung, 26(4):335-40, 1985.
- 42.- KLEIMAN MB, REYNOLDS JK, WATTS NH, SCHREINER RL, SMITH JW: Superiority of acridine orange stain versus Gram stain in partially treated bacterial meningitis. J.Pediatr. 104:401, 1984.

- 43.- KLEIMAN MB, REYNOLDS JK, SCHREINER RL, SMITH JW,  
ALLEN SD: Rapid diagnosis of neonatal bacteremia  
with acridine orange. Stained buffy-coat smears.  
J Ped. 105(3) 419-421, 1984
- 44 - KORONES SB, ABRAMSON H, FUJIKURA T: Neonatal pneu-  
monie in liverborn infants. Paper presented at the  
Meeting of the Colaborative Study in Cerebral Palsy,  
Mental Retardation and other Neurological and Senso-  
ry Disorders of Infancy and Childhood, Wash. DC,  
March 24, 1966.
- 45 - KORONES SB, ROANE JA, GILKENSON MR, LAFFERTY W, SE-  
VER JL: Neonatal IgM response to acute infection. J  
Pediat 75:2161, 1969
- 46 - LASCARI A: The erythrocyte sedimentation rate Pediat  
Clin.North Am 19:1115, 1972
- 47 - MANN JJ, ROSSER RD, LEHRICH JR, KASSEL JA: The effect  
of kaolin on immunoglobulins: An improved technique  
to remove the non-specific serum inhibitors of neo-  
virus hemmagglutination, J Immunologic 98:1136,1967.
- 48 - MANROE BL, ROSENFELD CR, WEINBERG AG: The diferential  
leukocyte count in the assessment and outcome of -  
early-onset neonatal group B streptococcal disease'  
J Pediat 91:632, 1977

- 49 - MONROE BL, WEINBER AG, ROSENFEL CR, BROWN R: The neonatal blood count in health and disease I. Reference values for neutrophilic cells, J Pediatr 95:89-98, 1979
- 50 - MARESANZ JL, MALAGA S, SANTOS F, NUÑO F, RAMOS A, CRESPO M: Valor diagnóstico de la proteína C-reactiva en la sepsis neonatal. An Asp Pediatr, 13:671-78, 1980
- 51 - MATHERS NJ, POHLANDT F: Diagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection. Eun J Pediatr, Mar, 146(2):147-51, 1987.
- 52 - McCracken GH, HARDY JB, CHEN TC, HOFFMAN LS, GILKESON MR, SEVER JL: Serum immunoglobulin levels newborn infants. 11 Survey of cord and follow-up sera from 123 infants with congenital rubella, J. Pediatr. 74:383, 1969
- 53 - McCracken G, EICHENWALD H, NELSON J: Antimicrobial therapy, I. Clinical pharmacology; 11, Clinical approach, J Pediatr. 75:742-923, 1969
- 54 - McCracken GH, SHINEFIELD HR: Immunoglobulin concentrations in newborn infants with congenital cytomegalic inclusion disease Pediatr 36:933, 1965

- 55.- MONERIELL A: Infection in the newborn baby, Brit.Med. J.1:1, 1953.
- 56.- NAMDEO VK, SINGH HP, RAJPUT VJ, KUSHWAHA JS: Hematological indices for early diagnosis of neonatal septicemia. Indian Pediatr. Apr.22(4):287-92,1985
- 57.- NELSON WE: On the role on infections in neonatal mortality, J Pediatr.56:271, 1960.
- 58.- NETER E, BERTRAM LF, ZAK DA, MURDOCH MR, ARBESMAN CE: Studies on hemmagglutination and hemolysis by Escherichia coli antisera, J.Exper.Med 96:1, 1952
- 59.- NETER E, WEBB CR, SHUMWAY CN, MURDOCK MR: Study on etiology, epidemiology and antibiotic therapy of infantile diarrhea, with particular reference to certain serotypes of Escherichia coli, Am.J.Pub. Health, 41:1490, 1951.
- 60.- OVERALL JC: Neonatal bacterial meningitis. Analysis of predisposing factors and outcome compared with matched controls. J Pediatr,76:499, 1970.
- 61.- PARK B, FIKRING S, SMITHWICH E: Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic aid. Lancet 2:532, 1968.
- 62.- PARK BH: The use and limitations of the nitroblue

- tetrazolium test as a diagnostic aid. *J. Ped.* 78:376. 1971.
- 63.- PHILLIP AGS: The protective effect of acute phase reactants in neonatal sepsis. *Acta Paediatr. Scand.* 68:481-83, 1979.
- 64.- PHILLIP AGS, HEWITT JR: Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatr.* 65:1036-41, 1980.
- 65.- PHILLIP AG, SANN J, BIENVENU F: Acute phase proteins in neonatal necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr. Scand* Nov. 75(6):1032-3, 1986.
- 66.- PLOTKIN SA, DUDGEON JA, RAMSAY AM: Laboratory studies on rubella and the rubella syndrome, *Brit. Med.* 7.2:1296, 1963.
- 67.- PRESSAC M, MAGNIER C, AYMARD P: Concurrent immunoassay of C-reactive protein and orosomucoid by random-access analysis, *Clin. Chem.* Jul. 32(7):1386-9, 1986.
- 68.- PUTTO A, RUSKANEN O, MEURMAN O, EKBLAD H, KORVENRATA H, MERTSOLA J, PELTOLA H, SARKKINEN H, VILJANEN MK, HALONEN P: C-reactive protein in the evaluation of febrile illness. *Arch. Dis. Child.* Jan, 61(1):24-9, 1986.
- 69.- QUIE PG: Neonatal septicemia, *Antibiot Chemother* 21: 128, 1976.

- 70.- RAMOS A, STERN L: Relationship of premature rupture of the membranes to gastric fluid aspirate on the newborn, Am.J.Obstet.Gynecol.105:1247, 1969.
- 71.- RICHARD T, SMITH, ERLING S, PLATOU, ROBERT A, GOOD: Septicemia of the newborn, Pediatr.17:549, 1956.
- 72.- ROITT I, BROSTOFF J, MALE: Immunology. The C.V.Mosby Company St. Louis Toronto.Gower Medical Publishing London New York, 1985.
- 73.- SABEL KG, HANSON LA: The clinical usefulness of C-reactive protein (CRP). Determination in bacterial meningitis and septicemia in infancy. Acta Paediatr.Scand. 63:381, 1974.
- 74.- SABEL KG, WADSWORTH CH: C-reactive protein (CRP) in early diagnosis of neonatal septicemia. Acta Paediatr.Scand.68:825-31, 1979.
- 75.- SALMI TT: Haptoglobin levels in the plasma of newborn infants with special reference to infections. Acta Paediatr.Scand.Suppl.241, 1973.
- 76.- SAXSTAD J, NILSSON LA, HANSON LA: C-reactive protein in serum from infants as determined with immunodiffusion techniques, II Infants with various infections. Acta Paediatr.Scand,59:676, 1970.

- 77.- SAXSTAD J, NILSSON LA, HANSON LA: C-reactive protein in serum from infants as determined with immunodiffusion techniques, I. Healthy infants. Acta Paediatr. Scand. 59:25-27, 1970.
- 78.- SCANLON J: The early detection of neonatal sepsis by examination of liquid obtained from the external ear canal, J. Paediatr. 79:247, 1971
- 79.- SPEER A, BRUNS M, GAHR: Sequential determination of CRP, alpha-1-antitrypsin and haptoglobin in neonatal septicemia. Acta Paediatr. Scand. 72:679-683, 1983
- 80.- SEVER JL, HUEBNER RL, CASTELLANO GA, SARMA PD, FABIYI A, SCHIFF GM, CUSUMANO GL: Rubella Complement Fixation test, Science 48:385, 1965.
- 81.- SEVER J, WHITE LR: Intrauterine viral infections, Ann. Rev. Med. 19:471, 1968
- 82.- SMITH H: Leukocyte containing bacteria in plain blood films from patients with septicemia, Aust. Ann. Med 15:210, 1966.
- 83.- SMITH RJ, PLATOW ES, GODD RA: Septicemia of the newborn. Paediatr. 17:549, 1956
- 84.- SOOTHILL JF, HAYES K, DUDGEON JA: The immunoglobulins in congenital rubella, Lancet 1:1385, 1966.

- 85 - STEWART GL, PARKMAN PD, HOPPS, DOUGLAS RD, HAMILTON JP, MEYER HM: Rubella hemagglutination inhibition test, New England J. Med 276:554, 1967.
- 86.. STICHM WR, AMMANN AJ, CHERRY JB: Elevated cord macroglobulins in the diagnosis of intrauterine infections, New England J Med.275:971, 1966.
- 87 - STUDER JP, GLAUSSER MP, SCHAPIRA M: Value of examining buffy-coats of intragranulocytic microorganisms in patients with fever. Br.Med.J.1:185, 1979.
- 88.- THOMAS L: The physiological disturbances produced by endotoxins. Ann.Rev.Physiol.16:467, 1954.
- 89 - TIETZ NW:Química Clínica Moderna Ed Interamericana la Edic.pp240-241, 1972.
- 90.- TODD SANFORD: Diagnóstico Clínico por el Laboratorio 5a Ed. Edit Salvat pp 1112-13, 1972.
- 91.- WELLER TH, HANSHAW JB: Virologic and clinical observations on cytomegalic inclusion disease. New England J Med.266:1233, 1962.
- 92.- WHEELER JG, CHAYVENET AR, JOHNSON CA, BLOCK SM, DILLARD R, ABRAMSON JS: Buffy coat transfusion in neonates with sepsis and neutrophil storage pool depletion, Pediatr.Marc, 79(3):4225, 1987.

- 93.- XANTHOU M: Leukocyte blood picture in full term and premature babies during neonatal period.Arch. Dis.Child, 45:242, 1970.
- 94.- XANTHOU M: Leukocyte blood picture in ill newborn babies: Arch.Dis.Child, 47:741, 1972.
- 95.- ZIPURSKY A, PALKO J, MILNER R: The hematology of bacterial infections in premature infants.Pediatr. 57:839, 1976.