

5
24.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

SEPTICEMIAS NEONATALES, SUS AGENTES
ETIOLOGICOS BACTERIANOS

TRABAJO ESCRITO

VIA CURSOS DE EDUCACION CONTINUA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
ELENA PATRICIA ARANDA BARRERA



MEXICO, D. F.

267632

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

Jurado asignado:

Presidente Prof. Peniche Quintana Elda

Vocal Prof. Escudero García M^a Elsa

Secretario Prof. Garza Velasco Raúl

1er. Suplente Prof. Astigárraga Zavaleta Maité

2º. Suplente Hernández Gómez Luciano

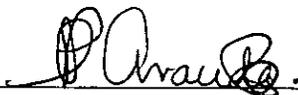
Sitio donde se desarrolló el tema: Diversas Bibliotecas

Q.F.B. ELDA PENICHE QUINTANA



ASESOR

ELENA PATRICIA ARANDA BARRERA



SUSTENTANTE

Este trabajo está dedicado:

A mis padres por su paciencia

Por amor a Carlos, Carlitos y Beatriz

A la profesora Q.F.B. Elda Peniche Quintana

**Mi más sincero agradecimiento
por su permanente guía y amistad.**

SEPTICEMIAS NEONATALES, SUS AGENTES ETIOLOGICOS BACTERIANOS

INDICE

OBJETIVOS

INTRODUCCION

I ANTECEDENTES

II POSIBLES CAUSAS POR LAS QUE SE PRESENTA

SEPTICEMIA EN UN NEONATO

III BACTERIAS FRECUENTES

IV DIAGNOSTICO EN EL LABORATORIO

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

OBJETIVOS

Llamar la atención del personal encargado para realizar un manejo adecuado de los neonatos.

Resumir las principales causas de la septicemia neonatal y sus agentes etiológicos.

Mencionar las técnicas involucradas en la identificación de los microorganismos para su posterior antibioticoterapia adecuada.

INTRODUCCION

El serio problema de mortalidad que se presenta en los neonatos cuando por diferentes causas adquieren una septicemia, originó que se realizara esta breve investigación acerca de las causas más frecuentes y los padecimientos que presentan debido a diversas situaciones a las que se enfrentan, ya sea antes del parto, durante éste o posteriormente.

En general, el padecimiento se comienza a tratar hasta que han transcurrido unas horas de nacido el niño, debido a que los síntomas hasta entonces se hacen visibles, en términos generales, los datos indicativos son: decaimiento, anorexia, anemia, diarrea (aunque no muy frecuente) e hipotermia.

Para tener certeza de la supuesta presencia de septicemia se solicita al laboratorio la identificación del agente etiológico, que normalmente se hace por hemocultivos, generalmente se encuentran cocos Gram-positivos y Gram-negativos con predominancia variable según las épocas.

Las causales de infección que se han encontrado son muy diversas, pero la considerada como más frecuente es el

rompimiento prematuro de membranas (que casi siempre queda sin atención) y que va a ser la vía más usual para contaminar al recién nacido por el paso de bacterias a través del canal del parto. Otras formas de contaminación son de carácter exógeno, como son el caso de enfermeras infectadas, de descuido en las cunas o bien de la transmisión por medio de la madre como sucede en el caso de la salmonelosis.

Son varias las enfermedades descritas como las más frecuentes y que pueden determinar la septicemia en un momento dado y son: conjuntivitis, otitis, onfalitis y neumonía.

En general, se puede decir que todas las investigaciones publicadas llegan al mismo punto: se requiere de prontitud en el diagnóstico de laboratorio y la aplicación inmediata de antimicrobianos; por último, el establecimiento implica el fracaso de los mecanismos defensivos que controlan y resuelven la invasión de microorganismos al medio interno, lo cual es atribuible a un debilitamiento de las condiciones locales y generales. Si la capacidad defensiva no está aumentada, puede ser vencida por la mayor virulencia del agente agresor, porque el número de bacterias es mucho mayor que la carga normal o por una combinación de todos los factores mencionados.

Es oportuno mencionar que existen varias condiciones y

factores que propician la conversión de un episodio bacterémico a una septicemia, algunas de éstas son:

- **Edades extremas (recién nacidos y ancianos)**
- **Malformaciones congénitas del sistema nervioso, del tubo digestivo, del corazón y de los grandes vasos.**
- **Las condiciones clínicas asociadas con inmunodeficiencia humoral o celular.**
- **Los estados de inmunosupresión natural o estrogénica.**
- **Los trastornos metabólicos como *diabetes mellitus* y acidosis urémica.**
- **Las anemias de células falciformes.**
- **La desnutrición avanzada, especialmente la de tercer grado.**
- **Las intervenciones quirúrgicas que implican la apertura de cavidades sépticas.**
- **Las venoclisis y venodisecciones con permanencia prolongada de agujas, sondas o catéteres en cualquier vaso, independientemente del calibre.**

CAPITULO I

ANTECEDENTES

La septicemia es una causa importante y relativamente frecuente de morbilidad y mortalidad en los recién nacidos.

La frecuencia con que se encuentra el uso indistinto de las palabras "bacteremia" y "septicemia", fue motivo para buscar los criterios que dan la diferencia entre ambas. En esta búsqueda se encontraron varias definiciones, las cuales, aún cuando utilizan diferentes términos, e incluso enfoques, tienen finalmente, el mismo significado para cada una. Se investigó también la existencia de una definición propia para septicemia neonatal, lo que será de gran ayuda para enfatizar las situaciones tan concretas que se presentan al trabajar en este tipo de infecciones y de hospederos.

Las definiciones son las siguientes:

" Se reconoce que bacteremia refleja la presencia de bacterias en la sangre y septicemia indica no únicamente su presencia, sino también la de síntomas característicos como fiebre, escalofríos, taquicardia, choque y leucocitosis " (43) .

“Las bacterias residentes en el tubo digestivo, el árbol respiratorio, la piel y las mucosas, usualmente no invaden los tejidos subyacentes ni llegan a penetrar en el torrente sanguíneo; cuando ésto ocurre, se designa la condición como “bacteremia”, y si además del hemocultivo positivo, se tienen lesiones inflamatorias en otros órganos y tejidos, el estado se califica como “septicemia” (26) .

“ Bacteremia se refiere a la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo. La mayoría de los estudios concuerdan en que las fuentes más comunes de bacteremia son el tracto genito-urinario y el tracto respiratorio “ (5). “Septicemia” se refiere a que aparecen bacterias en sangre provenientes de otro sitio en el cual desarrollan una multiplicación activa, incluso liberando, según la especie, uno o varios productos enzimáticos, lo que puede relacionarse con sus propiedades de patogenicidad.” (13) .

Se puede ver que las definiciones arriba mencionadas se complementan. Para la finalidad de este trabajo se hará referencia sólo a la septicemia como tal.

La septicemia neonatal continúa siendo un problema a pesar de los cuidados higiénicos y el tratamiento con antibióticos de amplio espectro y, como se menciona al principio, está asociada con una alta mortalidad. Las nuevas técnicas de

inhibición de la labor de parto y los cuidados intensivos neonatales, crean condiciones favorables para el desarrollo de la septicemia ⁽⁴⁰⁾, o bien, la diferencia en la respuesta inmune e inflamatoria debida a la carencia de anticuerpos específicos contra el microorganismo invasor, ya sean opsoninas (anticuerpos facilitadores de la fagocitosis) o neutralizantes, que impiden la localización de la infección, lo que hace al recién nacido más susceptible a invasiones bacterianas de la sangre, que a los niños mayores y/o adultos; el riesgo es todavía más alto cuando los niños nacen prematuramente. Como ejemplo de esto se puede mencionar la deficiencia por carencia de IgM en neonatos, que favorece las septicemias por bacterias Gram (-), generalmente enterobacterias.

Al efectuar estudios retrospectivos de infección neonatal, éstos muestran, a menudo, que los recién nacidos tienen el riesgo de adquirirla por distintos factores como son: transmisión por vía materna, ruptura prolongada de membranas, alumbramiento anormal y nacimientos con asfixia, o una infección tardía al entrar en contacto con el medio ambiente ^(28, 32).

Cabe mencionar que en la mayoría de los casos, los niños que nacen con poco peso son particularmente los más susceptibles de adquirir la infección por alguna de las formas mencionadas.

El problema de las infecciones bacterianas se acentúa aún más en las unidades de cuidados intensivos, en donde se adicionan otras causas, como un deficiente aseo de manos en enfermeras o uso de material no estéril.

“La septicemia neonatal se define como una infección bacteriana generalizada que se presenta durante los primeros 28 días de vida, evidenciada por un cultivo sanguíneo positivo “ (21, 34) .

Cuando esta septicemia ocasiona el fallecimiento, las causas se deben a una enfermedad multisistémica que se presenta durante la primera semana de vida, usualmente en las 48 horas posteriores al nacimiento; tiene una mortalidad superior al 50% y la bacteria responsable se adquiere del tracto genital materno antes o durante el alumbramiento. Las muertes en edades posteriores con menor frecuencia son fulminantes, la mortalidad desciende hasta el 10 % o 20 % y el agente etiológico se adquiere por contacto humano, así como por el empleo de equipo o material contaminados.

Es frecuente, en instituciones hospitalarias en donde ocurre una gran concentración de problemas infecciosos, encontrar “infecciones cruzadas” que pueden terminar en septicemias. Las vías de contaminación son muy variadas, se mencionan como ejemplo vaporizadores y otros fomites, así como

alimentos. El aislamiento defectuoso y el relajamiento en la técnica del manejo de los neonatos conduce sistemáticamente a un aumento en el número de infecciones nosocomiales que potencialmente evolucionan a septicemias.

Aunque la información es prácticamente nula con respecto a sepsis polimicrobiana en la población infantil, se incluye su definición:

“Se considera sepsis polimicrobiana al episodio en el que se aíslan dos o más microorganismos diferentes en el mismo hemocultivo durante un estado de septicemia” (2) .

Los estudios al respecto son escasos, por lo general se trata de series reducidas o bien, dirigidas a una población con características especiales como pacientes con leucemias o con cirugías contaminadas.

Así, uno de los dilemas más importantes en el manejo de los neonatos es que, a diferencia de los adultos, cuando se plantea la duda respecto al diagnóstico de sepsis neonatal, no se dispone de mucho tiempo para tomar una decisión, ya que una demora puede ser letal debido a las condiciones anormales del paciente al nacer (ser prematuro o de bajo peso), y es necesario manejar una serie de elementos clínicos como sería la descripción lo más completa posible del estado del paciente, para que el personal del laboratorio pueda

establecer una técnica adecuada de trabajo que derive en un rápido y correcto diagnóstico del problema.

CAPITULO II

POSIBLES CAUSAS POR LAS QUE SE PRESENTA SEPTICEMIA EN EL NEONATO.

Las causas para la presentación del cuadro de septicemia dependen básicamente de tres formas de adquirirla y pueden presentarse como sigue : antes del parto, durante o después del mismo.

Cada una de estas formas se va a caracterizar por las diferentes vías de entrada que tenga el microorganismo y por los factores de nacimiento inherentes, como lo es el bajo peso del neonato ⁽²³⁾ .

Causas antes del parto.- Aparentemente, la septicemia materna puede transmitirse por vía transplacentaria, pero estos casos son raros y se han asociado pocos microorganismos. El mejor ejemplo sería *Listeria monocytogenes* ⁽²³⁾.

Causas durante el parto.- Uno de los mayores factores de riesgo es la ruptura prematura de membranas, ésto es, antes de la regularización de las contracciones uterinas ya que las membranas y el fluido contenido en ellas son una defensa física e inmunológica muy importante del feto contra la

infección (15).

El líquido amniótico humano posee propiedades antibacterianas tanto para microorganismos Gram-positivos como para Gram-negativos; igualmente, las membranas amnióticas forman una barrera física contra los microorganismos.

El mayor riesgo de la ruptura prematura de membranas, aparte de propiciar el parto prematuro, es el de contraer una infección, y existe un mayor peligro de ésta cuando es mayor el lapso que transcurre entre su rompimiento y el nacimiento, sobre todo en embarazos de duración mayor a 36 semanas (4.15).

Según Courtenay S. (12) , puede ocurrir sepsis con una ruptura de membranas prolongada y prematura que sea de más de 12 horas, aunque de cualquier manera, ésta no es requisito indispensable para que ocurra la infección.

El tracto gastrointestinal y el tracto respiratorio del feto pueden colonizarse con microorganismos provenientes del líquido amniótico contaminado o de secreción vaginal absorbida o aspirada antes del parto o a través del canal. La infección, se presume, es el resultado de alguna alteración en la mucosa y/o exposición a un inóculo grande.

Causas después del parto.- la piel intacta es relativamente resistente a una invasión bacteriana, aunque la del recién nacido es bastante sensible, y, enseguida del parto, las bacterias pueden adquirirse en el cuarto de labor o en la cuna.

Quando se hable de infecciones neonatales ligadas a tratamientos con equipo contaminado, se pueden dar como ejemplo de fuente de contaminación los vaporizadores, respiradores, catéteres de succión mal esterilizados, equipos de venoclisis, agua contaminada de tanques de aislamiento y humidificación y de tiendas de oxígeno. Así, cuando se presenta alguna de las causas anteriores, es casi seguro que el portador sea la propia madre al efectuar un manejo inadecuado de dicho material, y se transmite posteriormente de niño a niño, cuando la limpieza del personal médico o de enfermería no es el óptimo.

Se tiene como ejemplo el caso específico de una enfermera con una dermatosis cutánea, que provocó un grave caso de septicemia en el cunero al infectar a los bebés en ombligo, oído, mucosa nasal y, finalmente, tracto intestinal ⁽³⁵⁾ .

Después del nacimiento, la piel y el cordón umbilical son importantes rutas alternativas para la introducción de

bacterias al sistema circulatorio, un ejemplo es la permanencia de catéteres endovenosos por más de 24 horas, lo que implica riesgos de contaminación local que van seguidos de flebitis y septicemias que guardan relación directa con el tiempo de permanencia del catéter.

Otro ejemplo es que, aún cuando existen medidas de control tan rígidas en la elaboración de soluciones inyectables, se han registrado septicemias atribuibles a contaminación, manejo o almacenamiento deficientes de dichos inyectables ⁽²⁶⁾ .

CAPITULO III

BACTERIAS FRECUENTES.

Muchas especies se han asociado a septicemia neonatal. Las bacterias que infectan al feto a través de la placenta son relativamente pocas, la más importante en este caso es *Listeria monocytogenes*, la transmisión de la madre al feto es directa y el grupo de neonatos de mayor riesgo es el de los nacidos antes de tiempo o con bajo peso.

En el Instituto Nacional de Perinatología la incidencia de septicemia en neonatos por *Listeria monocytogenes* es de 1 por 2,500 nacidos vivos en un periodo de observación de dos años ⁽⁷⁾ . En un estudio reciente en esta misma institución, se encontró un caso por año en 1,075 casos comprobados de septicemia durante 1986 a 1995 ⁽³⁶⁾ .

La infección, frecuentemente no se reconoce debido a lo variable de los síntomas clínicos. El comportamiento clínico puede constar de manifestaciones respiratorias anormales como asfixia, rechazo del alimento e irritabilidad. En algunos neonatos se han encontrado alteraciones gastrointestinales caracterizadas por evacuaciones diarreicas mucosas. A nivel ocular, se presenta también conjuntivitis severa ⁽⁷⁾. Sin embargo, la frecuencia de aislamiento en nuestro país se

considera ocasional (7).

En contraste, es muy amplia la variedad de microorganismos tanto Gram-positivos como Gram-negativos que pueden infectar al neonato durante o después del nacimiento.

En forma general pueden mencionarse, en nuestro país, como bacterias productoras de septicemia neonatal a:

Streptococcus de los grupos A y B, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas sp*, así como bacterias entéricas (36) .

Cuando se habla de septicemias desarrolladas después del período neonatal, que algunos autores definen como septicemia tardía y que se cataloga así cuando el bebé tiene más de 48 horas de vida (37) , la infección es provocada por colocación de catéteres intravenosos (del tipo umbilical, o de vena central) y los agentes etiológicos más probables son :

Pseudomonas sp., *Staphylococcus epidermidis* , *Proteus sp.* , *Aerobacter-Klebsiella* o *Staphylococcus aureus* (18) .

Hay que mencionar que la frecuencia de infección con cada uno de estos microorganismos varía de una institución a otra o bien de año en año en algunas de éstas. También varía de

una zona geográfica a otra, como es el caso ocurrido en las últimas décadas, mencionado por Othlsson y Serenius ⁽³⁵⁾, presente en distintas partes del mundo -pero no en nuestro país -en donde la causa de septicemia ha sido *Streptococcus* del grupo B, lo cual reafirma el Dr. Kumate ⁽²⁶⁾ al escribir "En México, la búsqueda de *Streptococcus* del grupo B en las septicemias de los recién nacidos, a diferencia de los encontrados en los Estados Unidos de Norteamérica, ha resultado negativa." Y que confirma el Dr. Calderón ⁽⁷⁾ al reportar que "el aislamiento de *Streptococcus* del grupo B en casos de septicemia neonatal ha sido esporádico, la aparente explicación a la baja frecuencia del aislamiento parece radicar en el bajo porcentaje de colonización cérvico-vaginal en la población mexicana."

No obstante lo mencionado en México, en otras partes *Streptococcus agalactiae* se asocia a una septicemia temprana (que se define así cuando ésta se desarrolla antes de las 48 horas de vida), en bebés de menos de 34 semanas de gestación, pero no se desarrolla cuando hay ruptura prolongada de membranas ^(9,28,40) . Incluso se reporta que cuando hay presencia de *Streptococcus* en orina materna antes del nacimiento existe una alta incidencia de septicemia neonatal ⁽³⁸⁾ .

Al revisar muestras de uretra y cérvix obtenidas de mujeres

durante el trabajo de parto, algunas resultaron con infección en conducto uretral y otras con una combinación de *Streptococcus* en conducto cervical y uretral. Las muestras obtenidas del canal auditivo externo, ombligo y garganta en los bebés de estas mismas madres dieron resultados positivos también (10,41) .

El cuadro clínico que presentan los neonatos con esta septicemia temprana, está compuesto de manifestaciones respiratorias y apnea, al evolucionar se observan fenómenos hemorrágicos y choque, posiblemente debidos a coagulación intravascular diseminada.

Las similitudes entre las manifestaciones clínicas y patogénicas de *Streptococcus* del grupo B y del grupo G, permiten mencionar aquí a este último, ya que ambos pueden ser recolectados en el tracto urogenital femenino y en forma no patógena, es decir, en portadoras. A diferencia de *Streptococcus agalactiae*, el del grupo G no está muy documentado pero se sabe que puede causar sepsis neonatal en asociación con ruptura prematura de membranas que no recibe atención (1) .

Haemophilus influenzae es un microorganismo que también actúa en sepsis temprana con un curso clínico similar al de la sepsis por *Streptococcus* del grupo B, pero los neonatos

afectados pesan menos de 1,500 gramos y en algunos casos puede existir ruptura prematura de membranas, pero no hay gran ocurrencia en el recién nacido por no ser frecuente la colonización del tracto reproductivo femenino.

El encontrar reportes de cultivos positivos del tracto reproductivo de la madre, así como de sus respectivos bebés con *Haemophilus influenzae*, sugiere que hay transmisión de la madre al feto, pero aún no está claro si el recién nacido con sepsis se coloniza o se infecta en el útero, o durante el parto ⁽²⁷⁾.

Se ha reportado la presencia conjunta de *Haemophilus influenzae* con *Streptococcus agalactiae* en unidades de cuidado intensivo. De las comparaciones entre estas sepsis se desprende lo siguiente:

La colonización genital materna con *Haemophilus influenzae* es de menos del 1 %, mientras que la de *Streptococcus* grupo B oscila entre 10% y 50% . En contraste, la colonización neonatal es a menudo del 50 % por *Haemophilus influenzae* y alrededor del 1 % por *Streptococcus* del grupo B ⁽⁹⁾ .

Cuando la sepsis se desarrolla después del período neonatal, uno de los agentes etiológicos importantes es *Staphylococcus sp* que se presenta con una frecuencia variable ⁽³⁶⁾ .

Cuando *Staphylococcus epidermidis* es el responsable del desarrollo de sepsis, alcanza una tasa de mortalidad del 64 %, y ésta va en proporción inversa al peso del niño al nacer (5,40).

Staphylococcus aureus se ha revelado como el mayor patógeno neonatal productor de septicemia tardía, su detección se realizó igualmente tanto en infantes prematuros, como a término (17).

A pesar de que los estafilococos coagulasa negativa se habían considerado inocuos, como se ve, pueden ser también una causa importante de septicemia en recién nacidos, sobre todo al colocárseles un catéter umbilical (42) .

En nuestro país, cuando se practican exámenes en el curso de las septicemias neonatales, se presenta como resultado un predominio de enterobacterias (7) por lo menos en 8 de cada 10 infecciones (8), las más comúnmente encontradas son *E. coli* y el grupo *Klebsiella-Aerobacter* que se asocian al período post-parto cuando hay presencia de catéteres endovenosos. En un trabajo realizado por Guilles y Monif (19) se reporta la evidencia bacteriológica de *E. coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Morganella morganii*, enterobacterias aisladas en sangre en el período post-parto y que se asocian

también a madres a quienes se les practicó cesárea .

Sin embargo, la sola presencia de un único miembro de las enterobacterias como un componente de la flora vaginal, no es indicativa de septicemia.

Berquist ⁽⁴⁾, Krauss ⁽²⁵⁾ y Kumate ⁽²⁶⁾ reportaron que en la década de los ochenta, el número de infecciones por *E. coli* y *Klebsiella* había declinado, pero se asociaban a una alta mortalidad. Reportaron también unos cuantos casos de *Pseudomonas sp.* que se encontraron en cultivos obtenidos de catéteres umbilicales o endovenosos presentes por más de 24 horas, en los que se aisló *Pseudomonas aeruginosa* .

Existen algunos microorganismos que pueden estar presentes aisladamente en algún tipo de septicemia como *Serratia marcescens* ⁽²⁰⁾ y *Citrobacter diversus* ⁽³⁷⁾; así en 1995, se encontró *Serratia marcescens* presente en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales perteneciente al Hospital de Pediatría del Centro Medico Nacional; el estudio se efectuó en 24 pacientes en quienes se determinaron como factores de riesgo :

- Sexo (masculino)
- Uso de catéter venoso central
- Días de estancia del catéter

- Días de exposición
- Uso y duración del tratamiento antimicrobiano previo
- Tipo de nutrición (parenteral) .

Se determinó también que el bajo peso al nacer y los procedimientos quirúrgicos no se identificaron como factores de riesgo para el desarrollo de infección por *S. marcescens*.

Citrobacter diversus, representa un caso particular debido a que se trata de solo un portador con dermatosis cutánea en manos ⁽³⁵⁾ .

Otro caso aislado de septicemia neonatal está representado por *Streptococcus pneumoniae* ⁽²²⁾. Éste se detectó en una recién nacida que presentó conjuntivitis purulenta en el ojo izquierdo y se reporta que nació vía vaginal 23 horas después de la ruptura de membranas, aislándose también en el tracto genital de la madre el mismo microorganismo.

Es conveniente mencionar que existen algunos microorganismos que sólo se catalogan como contaminantes:

Staphylococcus spp y *Bacillus subtilis* que se consideran contaminantes por técnica defectuosa en la práctica de los hemocultivos, se incluye a *Staphylococcus epidermidis* ^(40,44) (el cual se considera como patógeno cuando se aísla en dos o

más hemocultivos tomados en momento o sitio diferente) y *Corynebacterium sp.* ⁽³⁹⁾ .

Aunque en recién nacidos no se presentan microorganismos anaerobios patógenos, ya que forman parte de la flora normal y no se desarrollan con frecuencia, puede llegar a presentarse septicemia por esta causa. Se ha identificado a *Bacteroides fragilis* ⁽¹⁸⁾ como el microorganismo responsable y se detectó en un parto con ruptura prematura de membranas; en neonatos rurales se produce onfalitis por *Peptostreptococcus* o *Clostridium tetani* ⁽¹⁶⁾ así como *Clostridium botulinum* ⁽²⁶⁾ en niños que son alimentados con leche no materna.

Algunos datos sugestivos de infección con anaerobios son:

- Secreción purulenta
- Infecciones caracterizadas por presencia de gas
- Que los cultivos para microorganismos aerobios sean negativos pero que con tinción de Gram den positivo con presencia de bacterias y además que las muestras para el cultivo provengan de tejido normalmente estéril y de líquido corporal ⁽⁴⁶⁾ .

Finalmente, aunque no pertenece al área bacteriológica, cabe mencionar otro microorganismo que se ha presentado con mucha frecuencia en estos últimos años y es causante también

de este tipo de padecimientos, *Candida spp.* ⁽²⁹⁾ que en el Hospital Infantil de México, " Federico Gómez " se colocó en el segundo lugar de los microorganismos aislados en hemocultivos, con incrementos notables de 1980 a 1991.

Esto se debe a la mayor utilización de catéteres intravasculares, por un aumento en el empleo de la nutrición parenteral, así como el uso de antibióticos de amplio espectro que altera la flora intestinal normal y favorece el sobrecrecimiento de hongos con el consecuente riesgo de fungemia ^(11,29) .

Con este microorganismo, *Candida sp* , se completa el cuadro de bacterias causales de septicemias neonatales.

CAPITULO IV

DIAGNÓSTICO EN EL LABORATORIO.

a)DIAGNOSTICO

De todos los procesos microbiológicos realizados en el laboratorio, pocos son tan importantes como la identificación de microorganismos en la sangre.

Sabemos que un dato importante para llevar a cabo un hemocultivo y quizá el que más preocupa al paciente e incluso al médico, es la aparición de fiebre, y esto más aún si se prolonga sin etiología aparente; sin embargo, en el neonato la hipotermia es el hecho de mayor trascendencia para sospechar sepsis y por tanto practicar el hemocultivo ⁽¹³⁾ .

También sabemos que la terapia con uno o más antimicrobianos se inicia usualmente ante la sospecha de una septicemia; el aislamiento, identificación y pruebas de sensibilidad antimicrobianas del agente etiológico permiten la modificación de la terapia inicial ya que la mortalidad asociada con septicemia, de un modo u otro, está determinada por la administración de una terapia antimicrobiana apropiada.

Como es importante que se use la técnica conveniente para garantizar la pronta detección de los microorganismos infectantes, es necesario observar algunas características de

recolección de muestras en los neonatos, entre éstas se puede mencionar que una sola muestra puede ser satisfactoria, así como la colección de 1 a 5 mililitros de sangre por cultivo, es suficiente.

El diagnóstico de septicemia en el recién nacido es difícil de realizar por la sintomatología tan vaga que presentan y debe considerarse una urgencia debido a su alta mortalidad.

La certeza en el diagnóstico de septicemia se basa en el aislamiento de la bacteria por medio del hemocultivo; sin embargo, su resultado se obtiene de 48 a 72 horas después de tomada la muestra, con la dificultad adicional de que si resulta negativo, no excluye el que se trate de un cuadro septicémico, por lo que se hace necesario contar con métodos rápidos que apoyen con mayor seguridad el diagnóstico (45) .

Sin embargo, la eficiencia de éstos, considerando los resultados falso-positivos o falso-negativos, sensibilidad y especificidad (con la desventaja de un mayor costo) no superan los procedimientos tradicionales como lo es el hemocultivo (14) .

Por lo mismo, es adecuado mencionar las condiciones para obtener un hemocultivo confiable, teniendo sumo cuidado en el control de algunas de las variables que tienen influencia

decisiva en la demostración del cuadro septicémico:

- **Un correcto procedimiento en la toma de muestra**
- **Oportunidad de relacionarlo con el cuadro clínico (temperatura y su variación)**
- **Volumen de sangre extraída y su dilución en el medio de cultivo (recomendado de 1 a 5 mililitros)**
- **Número de hemocultivos (2 hemocultivos)**
- **Anticoagulante empleado como PSS (polianetol sulfonato de sodio) anticoagulante ideal, que inhibe el efecto bactericida del suero por ser polianiónico e interfiere con la fagocitosis y la actividad de la lisosima en los polimorfonucleares ⁽¹⁴⁾ .**
- **Medio de cultivo adecuado.**
- **Condiciones de incubación de los hemocultivos⁽¹³⁾ .**
- **Utilización de otros tipos de evaluaciones para el diagnóstico como son la cuenta de plaquetas y la Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) ⁽⁴⁵⁾.**

Es importante recordar estos parámetros debido a que, como se mencionó con anterioridad, una de las desventajas de otros tipos de técnicas que se pudieran utilizar es el alto costo que tienen, aunque estas pruebas están al alcance de cualquier laboratorio clínico. Además, existe un arreglo matemático denominado Índice de Septicemia que se basa en el conocimiento que se tiene de que existen alteraciones en los

valores de la velocidad de sedimentación, en la cantidad de polimorfonucleares segmentados y no segmentados y en la cuenta de plaquetas en los pacientes con septicemia ⁽³³⁾ .

Todos estos datos, son accesibles a cualquier centro hospitalario.

En los recién nacidos, el incremento de la VSG ha demostrado de manera consistente su utilidad en el diagnóstico temprano de septicemia; por otro lado, la disminución de las plaquetas en la sangre periférica ha resultado ser una manifestación frecuente de septicemia, tanto en adultos como en niños, en estos últimos con una frecuencia hasta del 61% ⁽³³⁾ .

Se estudió un grupo de niños lactantes, en quienes el número absoluto de neutrófilos polimorfonucleares (PMNS) o polimorfonucleares no segmentados (PMNnoS) por milímetro cúbico, demostró ser más sensibles para detectar pacientes con infección bacteriana, que la cuenta total de leucocitos por milímetro cúbico. Con la correlación de estos cuatro parámetros se evaluó la utilidad de un criterio combinado pensando que cada una de las partes por separado han demostrado que se alteran durante la septicemia.

El fundamento de la determinación del Índice de Septicemia se basa en el hecho de que los cuatro factores mencionados tienen variaciones durante la septicemia, así, los PMNS

PMNnoS y la VSG se incrementan y el recuento plaquetario disminuye ⁽³³⁾ .

Si todos los factores se modifican como sucede en la septicemia, los valores son mucho más bajos. Matemáticamente se escribe así:

$$\text{INDICE DE SEPTICEMIA} = \frac{\text{NUM. DE PLAQUETAS}}{(\text{VSG}) (\text{PMNS}) (\text{PMNnoS})}$$

El método demostró ser estadísticamente significativo en la detección temprana de la septicemia del recién nacido y permitir además la diferenciación entre los casos positivos de los que no lo fueron.

Se considera además que pudiera tener un valor pronóstico aparte del valor diagnóstico que se trata de demostrar.

Una limitación relativa del método la constituye el transfundir con sangre total al paciente, lo que alteraría los parámetros, y como una ventaja sobre el hemocultivo está el requerir un menor tiempo para obtener resultados^(33,45) .

Para continuar con técnicas que se definirían como no microbiológicas, incluiremos la de las proteínas reactantes de fase aguda de las cuales la que más se ha estudiado es la

proteína C reactiva (22).

Este procedimiento es útil para identificar sepsis neonatal causada por bacterias Gram (-) o Gram (+), incluyendo al *Streptococcus* del grupo B.

Se toma en consideración este método porque su utilidad radica en que es uno de los parámetros que se alteran al principio de una septicemia lo que permite un diagnóstico temprano. La técnica que se utiliza es la de aglutinación en partículas de látex, técnica sencilla, sensible, rápida y de bajo costo. Al emplear métodos cuantitativos en pacientes con infecciones por *Streptococcus* del grupo B, se observan valores de proteína C reactiva inferiores a 32mg/dL mientras que infecciones causadas por *Pseudomonas*, *Klebsiella* y/o *Escherichia coli* dan como resultado concentraciones superiores (3).

Los resultados que se obtienen de esta prueba indican que las bacterias Gram (-) dan concentraciones mayores que las Gram (+). Esto permite continuar con el estudio del paciente y con los demás procedimientos como es el hemocultivo ayudando al médico a un pronto inicio del tratamiento.

Conviene mencionar que hay autores (45) que no recomiendan utilizar esta prueba como elemento de ayuda en el diagnóstico de septicemia en la etapa neonatal debido a que estos

reactantes de fase aguda (proteína C reactiva, alfa -1-antitripsina y orosomucoide), permanecen elevados durante un tiempo prolongado después de haber estado en contacto con algún estímulo y por lo tanto, a pesar de que los niños ya se hayan curado, no han llegado a sus cifras normales ⁽³⁾ .

Para realizar la detección del probable microorganismo patógeno causante de una septicemia, es necesaria la identificación morfológica previa del microorganismo por medio de una tinción de Gram.

Se han efectuado estudios buscando la forma de apresurar el resultado del análisis de una muestra y uno de ellos es precisamente el que se realiza para la diferenciación de la morfología de los microorganismos presentes, empleando un frotis del cultivo de sangre.

Los cocos Gram-positivos son de los agentes más patógenos y también los elementos contaminadores más comunes (*Staphylococcus coagulasa negativa*) y los que más se desarrollan en cultivos sanguíneos. Se observa entonces que el manejo apropiado de pacientes con septicemia originada por cocos Gram positivos, depende de la situación clínica y de la probable identidad de la bacteria.

En un estudio realizado por Ellen R. Wald ⁽⁴⁶⁾, se demostró que los estreptococos y estafilococos pueden distinguirse cuando se utiliza en el laboratorio la tinción después de un primer cultivo y a partir del reporte correspondiente, la septicemia puede evaluarse en el contexto de su situación clínica para tomar la acción adecuada en el manejo del paciente.

A grandes rasgos, la técnica que se efectúa consiste en cultivar la muestra en caldo tripticasa soya, incubando tanto en forma aerobia como anaerobia y observando durante un máximo de diez días o hasta que se enturbie el medio; se practican frotis y se subcultiva. Se clasifican morfológicamente los cocos Gram-positivos desarrollados en cadenas o racimos; en el primer caso se considera así cuando son más de cuatro cocos en línea. Los microorganismos recuperados se identifican por técnicas rutinarias⁽⁴⁶⁾. De los resultados, se observa que la mayoría de los cocos se encuentran en racimos, el resto en cadenas, no es normal que simultáneamente se encuentren ambos tipos de agrupación.

Luego de revisar lo anterior se ve la importancia de recomendar un examen microscópico por tinción de Gram desde el primer día, para la detección temprana y rápida del agente etiológico.

Ya con los antecedentes descritos, solo faltan mencionar medios de cultivo requeridos para la confirmación tanto de una septicemia como de los microorganismos causantes de la misma.

El método de cultivo sanguíneo convencional o visualmente monitoreado es técnicamente el más sencillo, pero también el método que tiene más trabajo. Se debe elegir un par de botellas de medio de cultivo complementario que proporcione las necesidades nutricionales de una gran variedad de microorganismos ⁽¹⁴⁾.

Los medios líquidos de enriquecimiento como caldo soya-tripticosa, peptona suplementada, infusión de cerebro-corazón y caldo Columbia, pueden emplearse para la recuperación de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas; para el cultivo de anaerobios se pensaría en medios de cultivo con tioglicolato, Thiol y caldo de cerebro-corazón prerreducido.

Se dispone comercialmente de medios de cultivo, algunos para incubación aeróbica y otros anaeróbica. La atmósfera en la que se preparan los medios para cultivos sanguíneos comerciales, se enriquece con CO₂, después de la inoculación una de las botellas se ventila para generar una atmósfera aerobia ^(13,14).

Estos medios comerciales son normalmente medios bifásicos y podemos encontrar los siguientes:

- Los sistemas Septic-Chek y Opticult (Becton-Dickinson sistemas microbiológicos Cockeyville Md.) en los que el medio utilizado permite una mayor recuperación de organismos tanto aerobios como anaerobios, con un menor tiempo en la detección del crecimiento microbiano son dos ejemplos ⁽¹⁴⁾ .
- El medio Ruiz-Castañeda, que ya se ha sustituido en algunos de los laboratorios por: ⁽³⁰⁾ .
- Hemoline performance blood cultures (bio Mérieux) cuyo fundamento de detección es el mismo que el del Ruiz Castañeda con dos frascos, uno con un medio especial para microorganismos anaerobios y otro con medio bifásico para el desarrollo de microorganismos aerobios y facultativos, con la ventaja que presenta la adición de nutrientes para una mayor y más rápida detección de la multiplicación microbiana ⁽³⁰⁾ .
- Pediatric Septic-Chek Blood Cultures System (Roche Diagnostics).-Los medios sólidos empleados son: agar-chocolate, agar McConkey y agar-malta, por lo tanto permite el crecimiento primario de microorganismos

aerobios y facultativos con ventajas similares a los anteriores (31) .

Para la identificación de *Streptococcus pneumoniae* puede utilizarse el cultivo BACTEC NL-730 de Becton-Dickinson Towson (USA) en el que se identifica rápidamente el crecimiento de dichos cocos Gram-positivos, alargados, en parejas y cadenas cortas(22) .

El medio de Ruiz-Castañeda sólo se utiliza para la detección y recuperación de *Brucella* y de *Streptococcus* β hemolítico tipo B, sigue siendo el medio ideal de cultivo.

Las botellas con los medios Ruiz-Castañeda, Bio Mérieux y Pediatric Septic-Check se examinan diariamente para detectar signos visibles de crecimiento de las bacterias, usualmente por un total de siete días. Aquí, cabe hacer un paréntesis para mencionar que para los medios en los que se realiza el hemocultivo en neonatos no se requiere cultivar por más tiempo, ya que esto sólo sería necesario para detectar *Brucella spp.*, microorganismo difícil de encontrar debido a las condiciones que se necesitan para adquirir esta infección en un neonato.

Con la tinción rutinaria con anaranjado de acridina en los cultivos sanguíneos de entre 6 a 18 horas de incubación, se

ha logrado una detección temprana de microorganismos ^(14,31)
Por medio de esta tinción de acridina se pueden identificar levaduras y bacterias (que se tiñen de rojo-anaranjado brillante). El problema de esta tinción es que se requiere de un microscopio de fluorescencia y no todos los laboratorios cuentan con uno, pero es una prueba muy sensible, por lo que resulta conveniente hacerla. Además de que es posible utilizarla aún cuando el cultivo sea macroscópicamente negativo. Por último, esta prueba puede ser equivalente a un subcultivo, lo que hace un ahorro de 24 horas ⁽³¹⁾ .

Cuando aparecen evidencias de desarrollo, se debe realizar un frotis para tinción de Gram; los resultados de la morfología microscópica del microorganismo aislado orientarán al clínico en la terapia y al microbiólogo en los métodos para la identificación definitiva. Entonces, los medios de cultivo de resiembra dependerán del tipo de bacteria, como por ejemplo:

Para bacilos Gram-negativos, agar de eosina y azul de metileno (EMB) y para Gram-positivos, agar-sangre (AS).

Estas resiembras deben efectuarse en condiciones aerobias y anaerobias. Si el frotis de Gram observa un solo tipo de morfología, es necesario continuar con las pruebas adecuadas bioquímicas e inmunológicas ⁽¹³⁾ .

Al obtener el crecimiento en las resiembras, se hace tinción de Gram de las colonias para comparar la morfología de la bacteria con la observada en el frotis directo del hemocultivo. Todo esto es con el fin de descartar una contaminación en la siembra y equivocación al manejar los cultivos. Después de comprobar que coincidan las dos observaciones, se procede a la identificación de la bacteria aislada (13).

Candida sp es un hongo levaduriforme cuya frecuencia se ha incrementado quizá debido al uso de catéteres intravasculares y a mayor uso de nutrición parenteral que, además de condicionar una solución de continuidad hacia el torrente sanguíneo, tiene lípidos en su composición, lo que favorece la infección por hongos; se ha visto que muchas veces, con la simple renovación del catéter se resuelve el problema (11,29) .

Relativo a los métodos de laboratorio empleados para detectar los principales microorganismos causantes de septicemia neonatal, en la actualidad los más utilizados son los de revisión por observación directa mencionados anteriormente, y los de detección continua por métodos indirectos, éstos últimos de manera semiautomatizada, mismos que se tratan a continuación.

De entre éstos, la firma Becton Dickinson ha desarrollado el

sistema BACTEC que comprende modelos con diferente tipo de funcionamiento, así:

- El sistema radiométrico BACTEC fue el primer método semiautomatizado de cultivo sanguíneo que se desarrolló. Aunque en la actualidad no es ampliamente utilizado en cultivos sanguíneos rutinarios, sí lo es en cultivos mycobacterianos (14).
- El sistema BACTEC NR-660 utiliza un espectrofotómetro infrarrojo con dos lecturas cada 24 horas para detectar el bióxido de carbono producido por el crecimiento de microorganismos y permite una detección temprana de episodios bacterémicos en pacientes. Este sistema puede emplear diferentes medios de cultivo que se aplican para análisis de muestras tanto pediátricas como de adultos, diferenciadas por el volumen de sangre requerida (14, 24,47)
- Botella PEDS PLUS en el sistema BACTEC NR-660, este medio contiene resinas que absorben antibióticos y factores naturales contra los microorganismos.

Este sistema actúa utilizando espectroscopía infrarroja para detectar el bióxido de carbono producido por los microorganismos metabolizantes efectuando lecturas dos

veces al día. Como observación, el PEDS PLUS se utiliza en los Estados Unidos de Norteamérica comúnmente para la detección de bacteremia y fungemia en niños (30,47) .

Los sistemas de monitoreo continuo de cultivo sanguíneo detectan automáticamente crecimiento microbiano y generan una señal para informar al operador, por ejemplo:

- **BACTEC 9000**, esta serie incluye un microprocesador y unidades de incubación-detección. Consta de un diodo emisor de luz y otro absorbente en la base de cada compartimento de la botella con un sensor de bióxido de carbono en su base. El indicador es fluorescente y se monitorea cada 10 minutos. Este sistema incluye también medios de cultivos específicos para uso pediátrico (14,47) .
- **VITAL (Bio Mérieux Vitek Inc. Hazelwood Mo)**, es un nuevo sistema de monitoreo continuo de cultivos sanguíneos basado en la detección del crecimiento microbiano por la medida del decremento de fluorescencia. Esta fluorescencia está dada por moléculas fluorescentes presentes en solución en el medio de cultivo VITAL. El decremento de fluorescencia se debe al crecimiento del microorganismo solo o en combinación de bióxido de carbono, hemólisis y acidificación o reducción del medio.

La medición se efectúa cada 15 minutos por medio de instrumentos ópticos. El sistema VITAL no es específico para niños ^(14,47) .

b)TRATAMIENTO

Tal como ocurre en todas las enfermedades infecciosas, en las septicemias la necesidad de una acción oportuna y eficaz, dependen del diagnóstico acertado y de la precocidad con que se inicia el tratamiento ⁽³⁶⁾ .

Los principios generales del manejo son:

- 1) Empleo de antibióticos bactericidas de preferencia a los bacteriostáticos.
- 2) Utilización de las máximas dosis tolerables.
- 3) Aplicación por vía endovenosa.
- 4) Conocimiento de las estadísticas de la prevalencia microbiana en función del tiempo, edad de los pacientes y lugar de trabajo.
- 5) Empleo de los antibióticos en función de la sensibilidad microbiana ^(6,11).

En los recién nacidos donde las bacterias Gram-negativas son las predominantes, con respecto a la sensibilidad frente a los antimicrobianos se emplea con mucha frecuencia la

combinación de beta-lactámicos más aminoglucósidos como ampicilina-kanamicina o la de ampicilina-gentamicina, cuando se tienen ya los resultados en el laboratorio (6,11).

Para microorganismos anaerobios se utiliza penicilina G y para atacar microorganismos en el Sistema Nervioso Central, se usa carbenicilina (6,11).

Dados los alcances de este trabajo, vale la pena puntualizar esto último, ya que la sensibilidad de los microorganismos a los medicamentos actuales se halla bien determinada y es como sigue;

E. coli. se trata con Gentamicina, Kanamicina, Cefalosporinas y Polimixinas.

Klebsiella-Aerobacter. se trata con Gentamicina, Polimixinas, Cefalosporinas y Kanamicina.

Proteus sp. se trata con Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina y Cefalosporinas.

Pseudomonas sp. se trata con Gentamicina, Tobramicina y Polimixinas.

Bacteroides sp. se trata con Clindamicina, Cloranfenicol y

Metronidazol.

Serratia sp. se trata con Gentamicina y Amikacina.

Streptococcus aureus. se trata con Oxacilina y Cefalosporinas.

Streptococcus pneumoniae y *Neisseria sp.* se tratan con Penicilina G o Benzil-Penicilina.

Enterococcus. se trata con Ampicilina y Estreptomicina.

Clostridium tetani se trata con Piridoxina y Antitoxina Tetánica con Esteroides Intratecales.

Candida sp. se trata con Anfotericina-B, 5 Fluorocitocina y su forma tópica con Nystatin. (6,11)

CONCLUSIONES

- La septicemia neonatal se asocia a una gran mortalidad, por lo tanto, se requiere diagnosticar rápidamente para la administración del antimicrobiano adecuado.
- Se requiere atender con prontitud y esmero los casos de ruptura prematura de membranas, pues es un factor predisponente.
- Se requieren cuidados extremos en la atención nosocomial de neonatos en situación de riesgo, como pueden ser los prematuros o de bajo peso.
- Se identifican a *Streptococcus* de los grupos A y B, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*, bacterias entéricas, *Proteus sp.*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Haemophilus influenzae*, como los microorganismos participantes con mayor frecuencia en la septicemia neonatal. Cada uno de éstos será el responsable dependiendo de algún factor específico como la prematuridad, el empleo de cesárea, de catéteres venosos, etc.
- Un dato clínico importante para realizar un hemocultivo a un recién nacido, es la hipotermia y se debe tomar una muestra sanguínea antes de la aplicación del antibiótico.
- Existen algunas pruebas en las que se puede apoyar el diagnóstico presuntivo de laboratorio como son el Índice de Septicemia, la Proteína C Reactiva, la tinción de Gram y la tinción con anaranjado de acridina.
- Para la realización de hemocultivos en neonatos existen sistemas manufacturados especialmente para determinación pediátrica.

- Se emplean técnicas tradicionales y semiautomatizadas para la identificación de los agentes etiológicos; la ventaja relativa de estos últimos es que se puede detectar el desarrollo en un tiempo menor, e inhibir algunos agentes externos.
- Se requiere continuar desarrollando técnicas en el laboratorio que permitan ganar tiempo en la identificación de los microorganismos causantes de la septicemia y así lograr un decremento en la mortalidad neonatal por esta causa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ancona Robert, Thompson Theodore "Group *Streptococcal pneumonia* and Sepsis in Newborn Infant" J. Clin. Microbiol. 10/5/758-759 (1979).
2. Arredondo García Luis "Sepsis Polimicrobiana" Infectología IV/1/2-3 (1984)
3. Baptista González Héctor A, Ibarra C. Alberto, et. Al. "Utilidad de la Proteína C Reactiva para el Diagnóstico de Sepsis Neonatal" Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 46/8/543-546 (1989)
4. Berqvist G. Eriksson M. "Neonatal Septicemia and Perinatal Risk Factors" Acta Paediatric Scand 68/337-339 (1979)
5. Bennet, M. Eriksson B. "Changes in the Incidence and Spectrum of Septicemia During a Fifteen Year Period" Acta Paediatric Scand 74/687-690 (1985)
6. Calderon Jaimes Ernesto.
APLICACIÓN CLÍNICA DE ANTIBIOTICOS Y
QUIMIOTERAPICOS
Francisco Méndez Cervantes ed.
México D.F. (1984)
7. Calderón Jaimes Ernesto.
CONCEPTOS ACTUALES EN INFECTOLOGÍA
PERINATAL InPer.
México D.F. (1988)
8. Calderon Jaimes Ernesto, González Napoleón. "Septicemia por Bacilos Gram-negativos" Rev. Mex. Ped. 45/297-304 (1976).

9. Campoagne Paul, Suiger Dan. "Neonatal Sepsis Due to Nontypable *Haemophilus Influenzae*" Am. J. Dis. Child. 140/117-121 (1986)

10. Christensen Krist Karen, Kerstin D. "Colonization of Newborns with *Group B Streptococci*: Relation to Maternal Urogenital Carriage" Scand J. Infect Dis. 13/23-27 (1981)

11. Conte E. John, Barriere L. Steven.
MANUAL OF ANTIBIOTICS AND INFECTIOUS DISEASES
 Lea & Febiger
 Philadelphia (1981)

12. Courtney Sherry, Hall Robert. "*Haemophilus Influenzae* Sepsis in the Premature infant" Am. J. Dis. Child. 132/1039-1040 (1978)

13. De la Cruz González Rubén, Arredondo García José.
 "Hemocultivos y Septicemia" Infectología IV/5/119-126 (1984)

14. Dunne W. Michael Jr., Nolte Frederick S, Wilson Michael S. "Blood Culture III" Cumitech . 1-21 (1997)

15. Eisenberg Ellen, Krauss Alfred.
 "Premature Rupture of the Membranes (PROM): A Neonatal Approach" Pediatric Annals 12/2/110-111,114-115,118-119. (1983)

16. Franco Cárdenas Teresa, Ugalde-Fdez Horacio, Hernández Garza Nora, Quiroga Garza Aquiles
 "Estudio de 10 Casos de Tétanos Neonatal" Perinatol. Reprod. Hum. 2/2/91,94 (1998)

17. Freedman Richard, Ingram David" A Half Century of Neonatal Sepsis at Yale" Am. J. Dis. Child . 135/140-144 (1981)

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

18. Gotoff P., Behrman R. "Neonatal Septicemia" J. Pediatr. 76/1/142-153 (1970)
19. Guilles R., G. Monnif "Association of Enterobacteriaceae Septicemia in the Immediate Postpartum Period and Asymptomatic Bacteriuria" Obs. Gyn. 60/2/184-187 (1982)
20. Gordillo Pérez MG., Miranda Novales MG., Solórzano Santos F., Villasis Keever M.A., Villegas Silva R., Leños Miranda B., Mercado Arellano A. "Brote debido a *Serratia marcesens* en una unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN). Estudio de Casos y Controles." Enf. Infec. y Microbiol. 17/2/71 (1977)
21. Guha D.K., Jaspal Dolbir. "Outcome of Neonatal Septicemia: A Clinical and Bacteriological Profile" Indian Peds. XV/5/423-427 (1978)
22. Jacobs Jan, Garmyn Kristien, Verhaegen Jan, Devlieger Hugo, Eggermont Ephrem. "Neonatal Sepsis Due to *Streptococcus pneumoniae*" Scand J. Infect Dis. 22/493-497 (1990)
23. Jeffery Hather, Mitchison Ruth. "Early Neonatal Bacteraemia" Arch. Dis. Child. 52/683/686 (1977)
24. Jorgensen James H., Mirret Stanley, McDonald L.C., Murray Patrick R., Weinstein Melvin P., Fune J., Trippy Christa W. "Controlled Clinical Laboratory Comparison of BACTEC Plus Aerobic/f Resin Medium with Bact/Alert Aerobic FAN Medium for Detection of Bacteremia and Fungemia" J. Clin. Microbiol. 35/1/53-58 (1997)
25. Krauss Alfred, Albert Rudolf. "Contamination of Umbilical Catheters in the Newborn Infant" J. Pediatr. 77/6/965-969 (1970)

26. Kumate Jesús, Gutiérrez Gonzalo.
MANUAL DE INFECTOLOGÍA
Edit. Hosp. Inf. Federico Gómez
México D.F. (1988)
27. Larracilla Alegre Jorge. "Septicemia, Generalidades
Sobre su Diagnostico" Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.
XXVII/3/22-25 (1980)
28. Ledesma Francisco, Valencia S. Gildardo. "Septicemia
por Salmonella en Niños Recién Nacidos" Rev. Mex. Ped.
45/305-313 (1976)
29. León-Ramírez Angel, Cashat-Cruz Miguel, Avila-
Figueroa Carlos Dr., Aranda-Patrón Eduardo "Infecciones
Nosocomiales en el Hospital Infantil de Mexico" Enf.
Infec. y Microbiol. 16/4/221 (1996)
30. Martín Fuentes, R.E.
Evaluación de 2 métodos para la detección de
microorganismos causantes de septicemia.
Tesis UNAM, México, 1995.
31. Mc Carthy L.R., Senne J. E. "Evaluation of Acridine
Orange Stain for Detection of Microorganisms in Blood
Cultures" J. Clin. Microbiol. 11/3/281-285 (1980)
32. Mc Laughlin James, Evers Jane. "Lack of Requirement
for Blind Subcultures of Bactec Blood Culture Media" J.
Clin. Microbiol. 14/5/567-570 (1981)
33. Mishra J. "Study of Neonatal Septicemia" Indian Ped.
22/4/281-285 (1985)
34. Naylor Judith, Kenneth Wagner. "Neonatal Sepsis Due
To *Streptococcus pneumoniae*" Can. Med. Assoc. J.
133/1019-1020 (1985)

35. Ohlsson A., Serenius F. "Neonatal Septicemia in Riyadh, Saudi Arabia" Act. Paed. Scand. 70/825-829 (1981)
36. Ortiz-Ibarra F.J., Segura-Cervantes E., Arredondo-García J., Santa María-Corona H. "Sepsis Neonatal. Diez Años de Experiencia" Enf. Inf. y Microbiol. 16/5/7 (1996)
37. Parry Michael, Hutchinson Jean. "Gram Negative Sepsis in Neonates: A Nursery Outbreak Due to Hand Carriage of *Citrobacter diversus*" Pediatrics 65/6/1105-1109 (1980)
38. Peltola Heikki, Salomaa T. "Septicemia in a University Pediatric Hospital: A Five-Year Analysis of the Bacterial and Fungal Isolates and Outcome of the Infections" Scand J. Infect Dis. 19/3/277-282 (1987)
39. Philips, AGS. "Early Diagnosis of Neonatal Sepsis" Pediatrics 65/1036-1040 (1980)
40. Placzek M, Whitelaw A. "Early and Late Neonatal Septicemia" Arch. Dis. Child. 58/728-731 (1983)
41. Rowby HA. "Incubation Period Necessary to Detect Bacteremia in Neonates" Pediatric Infect Dis. 5/5/590-591 (1986)
42. Speer Christian, Niujo Assja. "Elastase Alfa Proteinase Inhibitor in Early Diagnosis of Neonatal Septicemia" The J. Pediatric. 108/6/987-989 (1986)
43. Stern Leo. "Identificación del Neonato con Sepsis" Infectología 11/548-549 (1982)

44. Vargas Origel A, Escobidio Chávez E. "Epidemiología de las Bacteremias en una Unidad de Cuidado Intensivo Neonatal" Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. 42/5/306-309 (1985)
45. Vargas Origel A., Jasso G. Luis. "Evaluación de Algunas Pruebas de Laboratorio para el Diagnóstico de Septicemia en el Neonato" Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 37/6/1135-1140 (1980)
46. Wald Ellen R. "Gram Stain Interpretation of Blood Cultures" Clin. Pediatric. 21/8/463-465 (1982)
47. Zaidi Anita K.M., Mirret Stanley, McDonald Jane C., Earl E. Rubin., Meera Gupta. "Controlled Comparison of Bio Mérieux VITAL and BACTEC NR-660 Systems for Detection of Bacteremia and Fungemia in Pediatric Patients" J. Clin. Microbiol. 35/8/2007-2008 (1997)