

ARTICULO ORIGINAL

VALIDACION DEL INDICE I/T COMO PRUEBA DIAGNOSTICA EN INFECCIONES NEONATALES

VALUES OF THE I/T RATIO OF IMMATURE TO TOTAL NEUTROPHILS IN NEONATAL SEPSIS

Dra. Ma. del Pilar Navia B.*, Dr. Manuel Díaz**, Dra. Yuki Ode***,
Dr. Rolando Paz****, Lic. Pablo Almaraz****, Dr. Cristian Trigoso***, Dra. Esther Damiani***,
Univ. Mónica Rivera*, Lic. Jacqueline Farah*

RESUMEN

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la prueba diagnóstica del índice I/T en el diagnóstico de infecciones neonatales en recién nacidos pretérmino, término y post-término?

OBJETIVO GENERAL

Determinar los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos en la prueba diagnóstica del índice I/T para infecciones neonatales en niños atendidos en el Servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer de la ciudad de La Paz - Bolivia

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Estudio de Test diagnóstico

LUGAR

IINSAD, Servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer, Instituto de Genética

POBLACIÓN

268 recién nacidos, que provenían del Servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer, los años 2002 a 2004

MÉTODOS

Se tomó la muestra de sangre venosa de la región antecubital previa antisepsia de la piel, en un volumen de 3 mL: 2mL para

hemocultivo de acuerdo a normas estandarizadas en el Laboratorio de Bacteriología de INLASA. 1 mL con anticoagulante (EDTA) para el hemograma y el recuento total de leucocitos y plaquetas, análisis de los cambios morfológicos del citoplasma de los neutrofilos identificando la vacuolización y granulaciones tóxicas.

Se obtuvo información clínica de los pacientes con relación al peso de nacimiento, sexo, edad gestacional, complicaciones maternas y durante el embarazo y se anotó el puntaje de Apgar.

RESULTADOS

La sensibilidad obtenida en el nuevo test, con gold estándar, hemocultivo y clínica nos muestra 55 y 63% respectivamente, para la especificidad 64 y 70%, en valor predictivo positivo 36 y 63%, en valor predictivo negativo 79 y 71%, lo cual demuestra que el índice I/T es más específico y sensible cuando se relaciona con el diagnóstico clínico.

CONCLUSIONES

Conociendo la sensibilidad, especificidad y valor predictivo del índice I/T, es una prueba que ayuda al diagnóstico clínico de sepsis neonatal por ser prueba rápida y de bajo costo.

PALABRAS CLAVES

Sepsis. Recién nacidos. Índice I / T

ABSTRACT

RESEARCH QUESTION

Which are the sensitivity, specificity and predictive values of the I/T ratio of immature to total neutrophils in neonatal Sepsis of preterm, term or post term newbornsg?

OBJECTIVE

To determine the sensitivity, specificity and predictive values of the I/T ratio of immature to total neutrophils in neonatal sepsis.

DESIGN

Diagnostic test

PARTICIPANTS

268 preterm, term and post term neonates attended in the Neonatal Service of the Hospital de la Mujer with the clinical diagnosis of neonatal sepsis during the year 2002-04.

PLACE

INLASA, Genetic Institute and IINSAD - UMSA

Dra. Ma. Del Pilar Navia B. Responsable de Unidad y Coordinadora General del Postgrado Facultad de Medicina.
Email: pilarnavia@accelerate.com

* IINSAD – Unidad de Epidemiología Clínica, Facultad de Medicina – UMSA

** Servicio de Neonatología – Hospital de la Mujer

*** Laboratorio de bacteriología - INLASA

**** Instituto de Genética - Facultad de Medicina – UMSA

METHODS

We collected blood samples for cultures and for I/T relationship, we follow the protocol of the National Committee for Clinical Laboratory Standards on Cellular Morphology..

Clinical information were collected from each neonate including birth weight, sex, gestational age, maternal complications, intrapartum complications and apgar scores.

RESULTS

The sensitivity obtained with the new test, the gold Standard, blood cultures and clinical signs was 55 and 63% respectively.

INTRODUCCIÓN

La sepsis neonatal es una infección aguda con manifestaciones tóxico-sistémicas ocasionadas por la invasión y proliferación de bacterias dentro del torrente sanguíneo y en diversos órganos que ocurre dentro de las primeras 4 semanas de vida.¹

Dentro la fisiopatología de la enfermedad, la presencia de gérmenes invaden el torrente sanguíneo desde distintos sitios, siendo los más frecuentes en el neonato, las infecciones del aparato respiratorio, digestivo y la piel. Los agentes más frecuentes son los gram negativos como por ejemplo: *klebsiella*, *E. Coli*, *Pseudomonas*, *Salmonela* y *Proteus*. De los gram positivos el más frecuente es el *Estafilococo Aureus*.²⁻⁴

La sepsis neonatal se puede clasificar en precoz cuando se diagnostican en los primeros 7 días, y sepsis tardías cuando se diagnostican después de este periodo y antes de los 28 días de edad.²

Para el diagnóstico los signos y síntomas son inespecíficos en el recién nacido, el diagnóstico es generalmente subestimado y por estas razones se inician tratamientos antes de haber identificado en forma precisa el o los agentes causales de la infección neonatal.

Sin embargo la evaluación diagnóstica más frecuente llega a ser el hemograma especialmente el leucograma y en ello el aumento en los neutrofilos inmaduros, así como una relación en el índice Neutrofilos inmaduros / Totales mayor de 0.2 que puede tener una sensibilidad de 60 a 90%.^{2,4, 5-9}

El recuento de plaquetas en el recién nacido normal raramente es menor de 100.000/mm³ en los primeros 10 días, la trombocitopenia con conteos menores a 100.000/mm³ puede ocurrir en infección neonatal.⁴

Los reactantes de fase aguda son proteínas que aumentan durante la inflamación aguda e incluyen:

The especificity was 64 and 70%. The positive predictive value was 36 and 63% and the negative was 79 and 71%. So, the I/T index is more specific when it is related to the clinical signs.

CONCLUSIONS

The sensitivity, specificity and predictive values of the I/T test helps in the diagnosis of neonatal sepsis; it is a low cost rapid test.

KEY WORDS

Sepsis. Newborn. I / T ratio.

Proteína C reactiva y otras. La velocidad de eritrosedimentación es otra metodología simple, barata y sensible que colabora al diagnóstico de sepsis neonatal.

El objetivo del trabajo fue determinar los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos en la prueba diagnóstica del índice I/T para infecciones neonatales en recién nacidos pretérmino, término y post-término que son atendidos en el Servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer de la ciudad de La Paz – Bolivia

MATERIAL Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos se planteo un diseño de Test diagnóstico y la población estudiada fueron los recién nacidos pretérmino, a término y posttérmino con diagnóstico clínico de infección neonatal del Servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer.

Para determinar el cálculo de tamaño muestral se utilizó el paquete estadístico Epi info versión 6, para encuestas poblacionales. Se tomó como sensibilidad estimada para el índice I/T 82% y para especificidad el 61%, con un error aceptable de 5% Dando para sensibilidad la cantidad de 119 pacientes .y para especificidad 149 con un total de 268 recién nacidos.

La población fueron los recién nacidos internados en el Servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer que es un centro de referencia en la ciudad de La Paz y las muestras de estos pacientes fueron analizadas en el Laboratorio de Bacteriología de INLASA, la Unidad de Epidemiología Clínica de IINSAD y el Instituto de Genética de la Facultad de Medicina - UMSA

INTERVENCIÓN

Los pacientes motivo del estudio cumplieron los criterios de inclusión y exclusión, tanto para casos como controles.

Se llenó el formulario de datos generales para la identificación del paciente y conocer los antecedentes obstétricos y perinatales. , manteniendo el mismo código.

Se tomó la muestra de sangre venosa de la región antecubital, previa antisepsia de la piel, en un volumen total de 3 ml: 2ml para hemocultivo y 1 ml para hemograma.

Se realizaron dos hemocultivos, en un periodo de 24 horas, en el Laboratorio de Bacteriología del INLASA, las muestras fueron sembradas en los distintos medios de cultivo realizando lecturas desde las 48 horas hasta los 15 días.

Los resultados fueron reportados al Servicio de Neonatología de manera independiente y a doble ciego.

Para el hemograma, el recuento total de leucocitos y plaquetas, se considero el volumen de 1 ml de muestra coleccionada en un frasco con anticoagulante (EDTA). Se realizó el hemograma completo y sobre todo la lectura de la fórmula diferencial de leucocitos y posterior cálculo del Índice I/T a través del frotis de sangre y, se informó la presencia de los cambios morfológicos del citoplasma de los neutrófilos observando la presencia de vacuolización y granulaciones tóxicas.

MEDICIONES

Las mediciones se realizaron a través de técnicas y procedimientos validados a nivel internacional ya que son pruebas de laboratorio estándares. Para los datos generales se utilizó el cuestionario que permitio conocer los antecedentes obstétricos de la madre y las características perinatales del RN.

Para el hemocultivo se realizó la siembra de ambas muestras en Agar Sangre y Agar Mac Conkey simultáneamente y luego se incubaron a 35°C durante 18 a 24 horas.

Posterior al crecimiento de colonias se procedió a la coloración Gram., pruebas bioquímicas de acuerdo a la coloración de Gram para identificar el género y especie de cada uno de los microorganismos.¹⁰⁻¹²

La PCR, es un reactante de fase aguda que se utiliza para el diagnóstico de sepsis neonatal ya que es muy sensible pero poco específico.¹³

Todas estas técnicas se encuentran validadas a nivel nacional e internacional.¹⁴⁻¹⁵

En relación al hemograma, se utilizaron las técnicas manuales de recuento de leucocitos totales y plaqueta mediante la Técnica del Unopett, (reactivo de Oxalato de amonio al 1%).¹³

Para el frotis de sangre se utiliza la Tinción May Grunwald-Giemsa, esta tinción resalta de manera especial las granulaciones leucocitarias y mejora la coloración de los eritrocitos.¹²

Cumpliendo con las característica metodológicas en relación a los resultados del Índice I/T que sean independientes y a ciegas del Gold Standar se procede a clasificar a los pacientes de acuerdo a si presenta la infección neonatal o no (infectados / no infectados) en correlación con el test positivo (Índice I/T mayor a 0,19) y en aquellos sin enfermedad y con el test negativo, determinando además la existencia de resultados falsos positivos y falsos negativos. Todos estos datos fueron llenados en una tabla de contingencia de doble entrada o de 2 por 2 para el posterior cálculo de las medidas estadísticas específicas como es la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, likelihood ratio positivo y negativo.

RESULTADOS

Este trabajo fue realizado en 278 recién nacidos, en los cuales se aplicaron los criterios descritos y las mediciones adecuadas para poder analizar la nueva prueba diagnóstica frente a dos gold Standards, sin embargo todos los datos fueron introducidos al paquete estadístico STATA versión 6 para su validación y posterior estudio descriptivo. Los resultados fueron analizados de acuerdo a la clasificación de los pacientes con infección y sin infección según los resultados de Gold Standar que son el hemocultivo, y la clínica, confrontando los resultados del Índice I/T que es la prueba diagnostica en estudio.

Los datos fueron analizados a través de la distribución estadística, con medidas de tendencia central como promedio, mediana, e Intervalos de confianza del 95% (IC _{95%}) y de dispersión en las variables cuantitativas, como se observa en el Cuadro #1

CUADRO # 1
DISTRIBUCIÓN DE PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN RECIÉN NACIDOS

VARIABLE	X	SD	IC₉	Val.min	Val. Max
INDICE I/T	0.19	0.14	(0.18-0.21)	0	1.27
Hematócrito	45.6 %	6.6	(44.8 – 46.5)	28	74
Hemoglobina	14.6 g/d	2.1	(14.3 – 14.8)	9	23.6
Plaquetas	237000 /mm ³	86620	(226446-247562)	96000	498000
Leucocitos	12448	6056	(11717-13179)	3050	51000
Mielocitos	2.8	2.7	(2.3 – 3.1)	0	17
Metamielocito	3.5	3.2	(3.1 – 3.9)	0	22
Cayados	2.7	2.2	(2.5 – 3)	0	15
Neutrofilos	51.6	15.8	(49.7 –53.5)	8	82
Eosinofilo	0.9	1.2	(0.8 – 1.1)	0	8
Basófilo	0.2	0.5	(0.2-0.3)	0	4
Linfocito	33.5	15.3	(31.7 – 35.4)	5	80
Monocito	1.1	1.1	(0.9 – 1.2)	0	5
Eritroblastos	4.5	5.4	(3.8-5.1)	0	35

Fuente: Elaboración propia.

Los datos que presentan variables de tipo nominales, están distribuidas en el siguiente Cuadro # 2.

CUADRO # 2
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE LABORATORIO

VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Sexo Varón	138	51%
Mujer	135	49
Nacimiento Cesárea	158	58
Vaginal	114	42
Est. Vital Vivo	197	73
Fallecido	72	27
Hemocultivo Negativo	194	72
Positivo	75	28

Fuente: Elaboración propia.

Para determinar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos fue necesario introducir los datos a la tabla de contingencia de doble entrada o de 2x2

para obtener estos resultados. Se utilizó como gold estándar el hemocultivo y la clínica, y como prueba el Índice I/T. Como se observa a continuación:

TABLA DE CONTINGENCIA		HEMOCULTIVO	
		INFECCIÓN	SIN INFECCION
Índice I/T	Mayor 0.19	40	70
	Menor 0.19	33	123

Sensibilidad : 55% ic_{95%} (43 –66), especificidad : 64% ic_{95%} (56 –70), valor predictivo positivo: 36% ic_{95%} (27-46), valor predictivo negativo: 79% ic_{95%} (71-85), valor global de la prueba: 61,3% ic_{95%} (55-67), likelihood ratio positivo: 1,5 ic_{95%} (1.14-1.99), likelihood ratio negativo: 0,7 ic_{95%} (0,53-0.93)

Estos resultados demuestran que el índice I/T frente al Hemocultivo, tiene mucho más especificidad que sensibilidad, lo cual esta demostrado por la

probabilidad de no tener sepsis y que el valor del índice I/T sea menor a 0.19.

		CLÍNICA	
		INFECCIÓN	SIN INFECCION
Índice I/T	Mayor 0.19	72	43
	Menor 0.19	43	104

Sensibilidad : 63% ic_{95%} (53 –71), especificidad : 70% ic_{95%} (63 –78), valor predictivo positivo: 63% ic_{95%} (53 –71), valor predictivo negativo: 71% ic_{95%} (63 –78), valor global de la prueba: 61,3% ic_{95%} (61-72), likelihood ratio positivo: 1,5 ic_{95%} (1,6-2.8), likelihood ratio negativo: 0,7 ic_{95%} (0,40-0.68).

El índice I/T frente al hemocultivo resulto ser positivo cuando realmente había infección en un 55 % que muestra la sensibilidad, sin embargo esta sensibilidad es más baja en relación a la especificidad, mostrando un valor de 64% Con estos valores se puede determinar que esta prueba es mucho más específica que sensible.

Con relación a la clínica y el Índice I/T, se encontró que tanto la sensibilidad como la especificidad muestran valores más altos (65% y 70%) respectivamente en relación con el hemocultivo.

DISCUSIÓN

La mayoría de las sepsis precoces son originadas por gérmenes localizados en el canal genital (Transmisión vertical), pero puede ocurrir que el recién nacido (RN) se contamine en el 1º o 2º día de vida por gérmenes patógenos procedentes del personal o material de diagnóstico y/o tratamiento del centro hospitalario y si el periodo de incubación es corto puede dar lugar a sepsis nosocomial de inicio precoz (transmisión horizontal).

Generalmente la sepsis de comienzo tardío es de tipo nosocomial, pero también puede ser posible que la contaminación ocurra en el momento del parto por gérmenes localizados en el canal genital y si el periodo de incubación es largo dará lugar a sepsis verticales de inicio tardío. Por todo lo expuesto existirían infecciones de epidemiología, etiología y mortalidad diferentes.³

La sepsis neonatal precoz es la infección bacteriana diseminada con sintomatología clínica durante la primera semana, especialmente en el segundo o tercer día de edad y por lo menos con un hemocultivo positivo de vena periférica. La incidencia de sepsis neonatal en países desarrollados oscila entre 0.5 y 10 casos por 1000 nacidos vivos, manteniendo además tasas de letalidad que varían entre 15 y 50%.²

El 85% de infecciones precoces se producen durante las primeras 24 horas de vida y aun mas frecuente en prematuros.

Estas infecciones neonatales están asociadas por la contaminación de microorganismos provenientes de la madre.

Las infecciones son mas frecuentes en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) y en recién nacidos de menos de 1500 grs. de peso. En las Unidades de Cuidados Intermedios también puede existir el riesgo de infección ², apgar menor a 6 al 1er ó a los 5 minutos de vida, prematuridad, aspirado meconial y anomalías congénitas. Otros factores relacionados a infección son: Instrumentación obstétrica, parto atendido en medio séptico, reanimación del recién nacido, cateterismo, lavado de manos defectuosos, asepsia inadecuada en el medio, uso de ventiladores y humidificadores, alteraciones de los mecanismos de defensa de la piel y mucosas por el uso de catéteres y sondas.^{1,4}

Existen también factores de riesgo para infección neonatal y están referidos a la madre, la infección transplacentaria o una infección ascendente de cerviz, podría ser causa de colonización de organismos provenientes del tracto genitourinario de la madre (infección del tracto urinario), los neonatos adquieren la infección por el paso a través del canal del parto que se encuentra colonizado por estos microorganismos ⁴, infección materna, fiebre materna, mala nutrición materna, estado socio-económico bajo, abortos recurrentes, abuso de drogas, etc.

Factores obstétricos como trabajo de parto

prematuro, ruptura prematura de membrana de más de 18 Hrs. y corioamnionitis.

Los microorganismos mas comúnmente asociados con infecciones connatales, incluyen el grupo de *Estreptococos B*, *Escherichia coli*, *Hemofilus influenzae* y *Listeria monocitogenica*.⁴

Las infecciones perinatales suelen ocurrir entre los 7 a 90 días de vida y son adquiridas dentro el medio ambiente que se encuentre el niño. Los organismos implicados son causantes de sepsis y en esto se incluye el *Estafilococo coagulasa negativo*, *Estafilococo aureus*, *E coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Candida*, *Streptococcus del grupo B*, *Serratia*, *Acinetobacter* y *anaerobius*.

La piel del RN, el tracto respiratorio, conjuntivas, tracto gastrointestinal y ombligo podrían llegar a ser colonizadas del lugar donde se encuentre el niño.

La neumonía es más común en infecciones precoces, mientras que la meningitis y/o bacteremia son más comunes en infecciones tardías. Los prematuros y los niños enfermos tienen un incremento en la susceptibilidad para sepsis y sin inicio específico, por lo tanto ellos requieren mayor vigilancia.

Los signos y síntomas pueden ser débiles e inespecíficos especialmente para el diagnóstico temprano, lo cual depende de un alto índice de sospecha, estos pueden ser: respiración irregular, taquipnea, apnea, cianosis, incremento súbito en los requerimientos de O₂, datos de neumonía. Síntomas Gastrointestinales: alimentación pobre, residuo gástrico mayor del 50% de leche ofrecida, vómito, diarrea, distensión abdominal, ictericia, hepatoesplenomegalia. Distermia: hipotermia principalmente en el RN pretérmino y fiebre.

Neurológicos: hipoactividad, hiporreactividad, hiporreflexia, letargia, irritabilidad, temblores, convulsiones, fontanela abombada. Piel: palidez, piel marmórea, petequias, púrpura, escleredema principalmente en el niño pretérmino. Además de acidosis metabólica persistente y choque súbito y presencia de otros focos infecciosos.¹⁻⁵

La sepsis sigue siendo en la actualidad una importante causa de morbilidad y mortalidad en el periodo neonatal y su identificación precoz es un reto incluso para los neonatólogos con mayor experiencia ya que los signos y síntomas pueden ser muy sutiles

e inespecíficos. La instauración precoz del tratamiento antibiótico adecuado es muy importante para mejorar la evolución y el pronóstico de esta entidad clínica. Por esta razón se hace necesario encontrar una prueba o pruebas diagnósticas con adecuada sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo, que permitan identificar al neonato infectado, evitando la antibioticoterapia en el neonato no infectado.¹⁻⁶

En este trabajo mostramos que la sensibilidad y especificidad del índice I/T es más importante cuando se utiliza como gold estándar todos los parámetros clínicos para sepsis, que el hemocultivo. Se tomo como punto de corte para Índice I/T el valor de 0.19 ya que algunas referencias dan un valor de 0.2 y en algunas otras de 0.16.^{2,3,4} Este punto de corte fue identificado en una curva R.O.C. dando el valor en el extremo superior izquierdo.¹⁰⁻¹⁵

Es cierto que existe mucha discusión en relación a los criterios diagnósticos para este problema de sepsis neonatal, sin embargo se debe considerar que esta nueva prueba diagnóstica que es el Índice I/T, es una prueba específica y menos sensible, constituyéndose para el especialista médico en una herramienta válida para tomar una decisión frente al tratamiento que debe recibir un neonato en el momento de sospecha de sepsis.¹⁰⁻¹²

En las infecciones de los recién nacidos, como los signos y síntomas son inespecíficos, el diagnóstico es generalmente subestimado y por estas razones se inician tratamientos antes de haber identificado en forma precisa él o los agentes causales de la infección neonatal.^{4,6}

Sin embargo, la más común de las evaluaciones diagnóstica llega a ser el hemograma especialmente el leucograma y en especial el aumento en los neutrofilos inmaduros, así como una relación en el índice Neutrofilos inmaduros / Totales mayor de 0.2 que puede tener una sensibilidad de 60 a 90%.^{2,4, 5-9}

Habiéndose constatado que esta prueba no se realiza en nuestro medio, consideramos la necesidad de implementarla conociendo ahora su validez y reproducibilidad como alternativa diagnostica frente a pacientes con pronóstico o riesgo de sepsis neonatal.¹⁴⁻¹⁵

Se concluye que la validez en relación a la sensibilidad, especificidad y valores predictivos del índice I/T como prueba diagnóstica para detección de infección neonatal en los recién nacidos atendidos en el servicio de Neonatología del Hospital de la Mujer de la ciudad de La Paz, es una prueba específica y sensible mostrando valores más elevados frente a los hallazgos clínicos ya que nadie duda en iniciar antibiótico terapia sí clínicamente se considera indicado aunque las pruebas de laboratorio sean normales y , de igual modo, un test anormal aislado tampoco justifica iniciar la terapia correspondiente. Creo importante que el examen físico y la impresión clínica siguen siendo los datos más utilizados para apoyar la sospecha de infección como se ha demostrado en este estudio, mostrando como gold estándar, más alta sensibilidad y especificidad.

REFERENCIAS

1. Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. J Pediatr 1979; 95: (1): 89-98
2. Fernando AM, Pineda BE. Test de sepsis neonatal. Rev. Unah Honduras 1999, 20: (1): 1-26
3. Santana C. Avances en el diagnóstico de la sepsis neonatal. BSCP Can Ped 2004; 28 (1): 91-5
4. Belling L, Ohning BL, MacGilvray S, Neonatal Sepsis. Emedicine Journal 2002; 3 (6): 2-11
5. Manroe BL, Winberg AG, Rosenfeld CR, Browne R., The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. J Pediatr 1979; 95 (1): 89-98.
6. Khurshid SA, Mustafa S. Rapid Identification of Neonatal sepsis. J Pakistan Med Ass 2000; 50: (3) 1-6
7. Carballo C, Foucar K, Swanson P. Effect of high Altitude on neutrophil counts in newborn infants. J Pediatr 1991; 119 (3): 223-8
8. Schelonka RI, Yoder BA, Hall RB, Trippett TM, Louder DS, Hickman JR, Guerra C. Differentiation of segmented and band neutrophils during the early newborn period. J Pediatr 1995; 127: 298-300.

9. Schelonka RI, Yoder BA, Hall RB, Trippett TM, Louder DS, Hickman JR, Guerra C. Peripheral Leukocyte count and leukocyte indexes in healthy newborn term infants. *J Pediatr* 1994; 125: 603-6.
10. Mancilla-Ramirez J. Utilidad de las citocinas en el diagnóstico de sepsis neonatal. *Medicina basada en evidencia. Bol Med Hosp Infant Mex* 2000; 57:581- 8
11. Sfeir SJ. Infecciones bacterianas en el recién nacido. *Neonatología Hospital Clínico Univ. De Chile* 2001; 3: 25-33.
12. Franco del Rio G, Garza OO, Flores CJ, Garcia OD., Escobedo Ch E. Indicadores Hematológicos de septicemia neonatal. *Bol Med. Hosp Infant Méx* 1998; 45 (6):372-7.
13. Albornoz LA, Vaves VA, Pérez DMC. Infección en recién nacidos de madres con ruptura prematura de membranas de más de doce horas en el Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora. Tesis de la Univ. Central del Ecuador. Fac. de Ciencias Médicas. Quito 1996.
14. Cortez G, Aranda E, Torrez R. Hematologic values in newborn infants in La Paz - Bolivia. *Bol Med Hosp Infantil Mex.* 1985; 42: 248-55.
15. Berlanga-Bolado OM, Farias H, Salazar EL. Correlación entre la concentración de hemoglobina y el hematócrito, en muestras de sangre obtenido de los vasos cubital, umbilical y del talón, en neonatos sanos. *Rev Mex Pediatr* 1997; 64 (1): 5-8.