

# Indicadores imunológicos (IgM e proteína C-reativa) nas infecções neonatais

F.A.C. VAZ, M.E.J. CECCON, E.M.A. DINÍZ, F. VALDETARO

Departamento de Pediatria e Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

**RESUMO** — A sepse, no período neonatal, está associada com a presença de fatores de risco para infecção e com o estado imunológico do recém-nascido.

**OBJETIVO.** Verificar, em recém-nascidos com fatores de risco para infecção, o papel da proteína C reativa (PCR) e da imunoglobulina M (IgM) como indicadores de infecção.

**CASUÍSTICA E METODOLOGIA.** Foram estudados 57 recém-nascidos que apresentavam, como fatores de risco para infecção: ruptura prematura de membranas, associada ou não a amnionite clínica ou a infecção de trato urinário. Estes foram classificados em três grupos, de acordo com a idade gestacional <34 semanas, entre 34-36 6/7 semanas e (>37 semanas). O diagnóstico de infecção foi baseado em critérios clínicos e laboratoriais, e foram incluídos entre os métodos de diagnóstico a dosagem de PCR e de IgM. Os exames laboratoriais foram colhidos ao nascimento e no quinto dia de vida.

**RESULTADOS.** Dos 57 recém-nascidos estudados, 18 (31,5%) apresentaram sepse, sendo 13 (22,8%) a forma precoce e cinco (8,7%) a forma tardia. Houve associação estatisticamente significativa

entre idade gestacional, peso e presença de infecção, constituindo o grupo com idade gestacional inferior a 34 semanas o mais acometido e o que apresentou também maior número de óbitos relacionados com o processo infeccioso. Não se observou associação estatisticamente significativa entre sexo e infecção nos três grupos estudados. Em relação à IgM, houve diferença estatisticamente significativa entre níveis séricos médios de IgM dos RNs infectados que se mostraram superiores aos dos não-infectados nos três grupos de idade gestacional, tanto ao nascimento como no quinto dia, sendo esta diferença mais evidente no quinto dia. Constatou-se forte associação estatística entre níveis de PCR >10mg/litro e presença de infecção nos três grupos estudados.

**CONCLUSÕES.** Nesta casuística, a PCR foi o melhor indicador de infecção, revelado-se esta prova confiável para seguimento clínico no quinto dia de vida, e naqueles casos que apresentaram infecção tardia foi a primeira prova a se mostrar alterada.

**UNITERMOS:** Recém-nascido. Sepse. Imunoglobulina M. Proteína C-reativa.

## INTRODUÇÃO

O conceito clínico de sepse, definido por Bone *et al.*<sup>1</sup> em 1991, é de uma resposta sistêmica à infecção manifestada pelo menos por duas das seguintes condições: hipotermia, hipertermia, taquipnéia e taquicardia, e, laboratorialmente, por alterações na contagem de leucócitos no sangue, dispensando a positividade da hemocultura.

O quadro laboratorial de sepse, no período neonatal, permanece muito difícil, e o isolamento de um microorganismo no sangue, no líquido (LCR), na urina ou em qualquer outro local fechado constitui o exame mais específico para o diagnóstico de infecção, embora com alguns inconvenientes, o principal deles sendo o período de incubação da cultura de até 72 horas. Com esse período de

incubação, 98% das culturas positivas serão identificadas, com exceção de alguns *Staphylococcus* coagulase negativos, anaeróbios e fungos<sup>2</sup>. Squire *et al.*<sup>3</sup>, em 1979, mostraram que somente 82% dos RNs com infecção sistêmica comprovada por culturas *post-mortem* e achados de necropsia tinham culturas positivas *in vivo*. Visser e Hall<sup>4</sup> relataram que 15% dos RNs com diagnóstico de meningite e com cultura de líquido positiva tinham hemocultura negativa. Portanto, a negatividade da hemocultura não exclui infecção sistêmica.

A cultura de urina deve sempre ser colhida de punção suprapúbica para evitar contaminação. É uma técnica relativamente difícil e o crescimento bacteriano demora o mesmo tempo que as outras culturas como a do LCR<sup>5</sup>.

Os métodos para detectar a presença de anti-

genos bacterianos são rápidos e eficientes, podendo ser feitos em sangue, urina e LCR e, mesmo em pacientes que receberam antibioticoterapia prévia, costumam ser positivos. Destacam-se a contra-imunoeletroforese e o teste de aglutinação pelo látex.

Manroe *et al.*<sup>6</sup>, em 1979, estabeleceram os valores de referência normais e suas variações para a série branca no período neonatal, decorrendo daí que a neutropenia foi definida para número de neutrófilos inferior a 1.750 por mm<sup>3</sup> durante todo o período neonatal, sendo esta alteração mais associada a mau prognóstico do que a neutrofilia.

Em relação ao índice neutrofilico (neutrófilos imaturos/total de neutrófilos), foi verificado ser inferior a 0,16 nas primeiras 24 horas de vida, diminuindo para 0,12 após o terceiro dia, permanecendo neste valor no primeiro mês e sendo sugestivos de infecção valores superiores a 0,2. Manroe *et al.* observaram, ainda, que o número total de neutrófilos e o índice neutrofilico normais apresentavam um valor preditivo negativo para infecção de 100%, fato não comprovado por Benuk e David<sup>7</sup>, em 1983.

Essas alterações hematológicas são sujeitas a influências de afecções, como hipertensão materna, hemorragia intraventricular e asfixia perinatal, sendo mesmo relatado que a febre materna e o estresse, durante o parto, pode elevar o índice neutrofilico<sup>8</sup>.

Em relação à proteína C-reativa (PCR), sabe-se que ela é sintetizada pelo fígado após oito horas do início de um estímulo inflamatório e os valores normais são inferiores a 10mg por litro, no primeiro e segundo dia de vida, e inferior a 5mg por litro após.

Trabalhos da literatura mostraram um valor preditivo negativo que vai de 71% a 99%, com uma sensibilidade de 47% a 100%, uma especificidade de 83% a 94% e um valor preditivo positivo de 6% a 83%. Mesmo assim, existem controvérsias na literatura quanto ao uso da proteína C-reativa isoladamente como marcador de infecção<sup>8,10-12</sup>.

A velocidade de hemossedimentação (VHS) determinada por micrométodo é um exame fácil e pouco dispendioso; os valores normais aumentam com a idade pós-natal e são aproximadamente iguais aos dias de vida mais 3mm por hora, com um valor máximo de 15mm por hora. Ela é menos sensível que a PCR e se mostra falsamente positiva em crianças com doenças hemolíticas e falsa-negativa na coagulação intravascular disseminada, devido ao consumo de fibrinogênio. Trabalhos sobre VHS mostraram valor preditivo negativo de 94% a 97%, sensibilidade de 25% a 50%, especificidade de 83%

a 97% e valor preditivo positivo<sup>11,13-15</sup>.

Determinações da haptoglobina e do orosomúcoide têm recebido alguma atenção para o diagnóstico de infecção, no entanto alteram-se mais lentamente que a PCR<sup>11</sup>. A detecção de níveis elevados de C3d, que é o maior produto da ativação do complemento em resposta à endotoxina ou complexos antígeno-anticorpos, vem sendo utilizado no diagnóstico de infecção. Guillois *et al.*<sup>16</sup> encontraram valor preditivo negativo de 95%, sensibilidade de 74%, especificidade de 84% e valor preditivo positivo de 44%.

A visualização direta da bactéria em neutrófilos corados pelo corante laranja de acridina e o teste do NBT (nitrobluetetrazolium) têm boa especificidade e podem ser usados para o diagnóstico de infecção associados a outros testes<sup>17-19</sup>.

No protocolo de Gerdes e Polin<sup>14</sup> estão incluídos: o número de leucócitos, o índice neutrofilico, a PCR e VHS. Com essa associação, conseguiram melhorar o valor preditivo negativo, atingindo 100%, o que é muito importante, porém o valor preditivo positivo manteve-se muito baixo, cerca de 30%.

Além da associação de exames de laboratório, existem alguns trabalhos na literatura baseados em fatores de risco. Dentre aqueles em que se utilizou dados clínicos, destacamos o de St. Geme *et al.*<sup>20</sup>, que tinha como objetivo principal o diagnóstico da infecção precoce; eles observaram um aumento de 4 a 11 vezes no risco de infecção quando o sexo masculino, coriamnionite clínica ou prematuridade foram acrescentados ao risco primário que era ruptura prematura de membranas; quando dois desses fatores estavam associados, o risco de infecção aumentava 25 vezes, e se três fatores estivessem presentes, esse risco aumentava 30 vezes. A partir desses dados, os autores elaboraram um escore adicionando, aos dados citados, asfixia e presença de coriamnionite diagnosticada por exame anatomopatológico. Com esse escore, conseguiram diminuir a frequência do uso inapropriado de antibióticos.

Por tudo isso, o diagnóstico da sepse no período neonatal permanece difícil, quer do ponto de vista clínico quer laboratorial, assim como continuam as tentativas com o objetivo de diagnosticar precocemente a infecção sistêmica, minimizar a indicação de terapêutica e identificar aqueles RNs com risco de infecção.

As infecções sistêmicas no período neonatal, principalmente as que se manifestam nos primeiros dias de vida, dependem fundamentalmente da presença de fatores de risco e da imunocompetência do hospedeiro. Desta maneira, estudamos

RNs que apresentavam fatores de risco para infecção precoce analisando dois indicadores imunológicos (imunoglobulina M e proteína C-reativa) como métodos auxiliares no diagnóstico e seguimento do processo infeccioso.

### CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Foram admitidas no estudo 57 crianças nascidas no berçário anexo à Maternidade da Casa de Saúde Santa Marcelina, no período de dezembro de 1995 a dezembro de 1996, e que ao nascimento apresentavam como fator de risco para infecção precoce: ruptura prematura de membranas por mais de 24 horas, associada ou não a amnionite clínica ou a infecção do trato urinário; amnionite clínica, caracterizada, segundo critérios de Gibbs<sup>21</sup>, por febre materna igual ou superior a 38°C, taquicardia fetal maior que 160 bat./min, útero amolecido ou doloroso, ou líquido amniótico com odor fétido ou purulento.

A idade gestacional foi determinada segundo informação materna e/ou avaliação pelo método de Capurro<sup>22</sup> nos RNT, e pelo método de Dubowitz<sup>23</sup> quando se tratava de um RNPT e a classificação de adequação de peso para a idade gestacional foi realizada utilizando-se as cruvas estabelecidas por Ramos<sup>24</sup>.

Os RNs foram divididos em três grupos de idade gestacional: I) 19 RNs com idade gestacional  $\geq$  37 semanas; II) 19 RNs com idade gestacional entre 34-36 6/7 semanas; III) 19 RNs com idade gestacional inferior a 34 semanas.

Para o diagnóstico de infecção, utilizamos o conceito clínico de Bone *et al.*<sup>1</sup> e incluímos outros sinais e sintomas importantes nessa faixa etária: piora do estado geral, letargia, crises de apnéia, petéquias, icterícia, distensão abdominal, diarreia, sangramentos, bradicardia, cianose, hipotensão, diminuição de movimentos espontâneos, abaulamento da fontanela, convulsões.

Após consentimento dos pais, era colhida uma amostra de sangue de cada RN ao nascimento, por meio dos vasos fetais da placenta ou do cordão umbilical, e outra amostra no quinto dia de vida, mediante punção de veia periférica. Para o diagnóstico laboratorial de sepse neonatal precoce, foram realizados os exames pertinentes. Os indicadores imunológicos estudados foram os níveis plasmáticos de proteína C-reativa por meio do método de aglutinação do látex semiquantitativo, e os níveis séricos de IgM mediante teste de imunodifusão radial pela técnica de Mancini *et al.*<sup>25</sup> Foi afastado o diagnóstico de infecção congênita em todos os RNs estudados.

Para análise dos resultados, foram aplicados os seguintes testes: exato de Fischer, utilizado para avaliação da associação entre infecção e outras variáveis, como sexo, peso, óbito; qui-quadrado, para avaliação da associação entre infecção e idade gestacional; análise de variância (ANOVA), para avaliação entre os RNs infectados e não-infectados dentro de cada grupo de idade gestacional em relação a níveis médios de IgM ao nascimento e no quinto dia de vida. O nível de significância de todos os testes fixou-se em 0,05.

### RESULTADOS

Dos 57 RNs estudados, 18 (31,5%) apresentaram sepse, sendo 13 (22,8%) sepse precoce e cinco (8,7%) sepse tardia (tabela 1). Os fatores de risco para infecção mais frequentes foram a RPM, a fisometria e ambos fatores associados, ocorrendo, respectivamente, em 47,4%, 17,5% e 15,8% (tabela 2). As médias de peso variaram conforme a idade gestacional, havendo diferença estatisticamente significativa entre o peso dos RNs infectados e sem infecção dentro de cada grupo de idade gestacional (tabela 3). Não se observou associação estatisticamente significativa entre sexo e infecção nos três grupos estudados.

Houve associação estatisticamente significativa entre idade gestacional e presença de infecção (tabela 4, gráfico 1), sendo o grupo de menor idade gestacional o mais acometido e aquele que apresentou maior índice de óbitos relacionados com a presença de infecção (tabela 5). Quando separamos as infecções em precoces e tardias, foi também o grupo de menor idade gestacional (inferior a 34 semanas) o que apresentou maior número de infecções tardias em relação aos outros grupos, porém a diferença não foi estatisticamente significativa (tabela 6).

Em relação à IgM, houve diferença estatisticamente significativa entre níveis médios de IgM dos RNs infectados que se mostraram superiores aos não-infectados nos três grupos de idade gestacional, tanto ao nascimento como no quinto dia de vida, sendo esta diferença mais acentuada no quinto dia (tabela 7, gráficos 2 e 3).

Constatou-se forte associação estatística entre presença de níveis de PCR superiores a 10mg por litro ao nascer e infecção (tabela 8, gráficos 4 e 5), revelando-se, também, essa prova confiável para seguimento clínico no quinto dia de vida, e naqueles casos que apresentaram infecção tardia foi a primeira prova a se mostrar alterada.

Tabela 1 – Características clínicas e idade gestacional dos recém-nascidos que apresentaram infecção

Idade gestacional	Identidade	Tipo de infecção	Hemocultura	Fator de risco	Sexo	Óbito
≥37 semanas	I.S.B.	Sepse precoce	negativa	RPM	M	Não
34-36 6/7 sem.	I.J.S.	Sepse precoce	<i>E. coli</i>	RPM+FIS	F	Não
	A.P.S.	Sepse precoce + meningite	<i>S. grupo D</i>	FIS	M	Sim
	E.G.Q.	Sepse precoce	negativa	FIS+FM	F	Não
	M.J.S.	Sepse tardia+bcp	<i>S. aureus</i>	RPM	F	Sim
	L.F.O.	Sepse precoce+broncopneumonia	<i>S. viridans</i>	RPM+TF+FM	M	Não
	<34 semanas	E.C.V.	Sepse tardia	<i>Klebsiella sp.</i>	RPM+ITU	M
J.E.S.		Sepse precoce	<i>S. grupo B</i>	RPM+FIS	M	Sim
S.I.S.		Sepse precoce+onfalite	negativa	RPM+ITU	M	Não
S.F.J.		Sepse precoce+broncopneumonia	negativa	RPM+FIS	F	Sim
V.O.		Sepse precoce	<i>E. coli</i>	RPM+FIS+FM	F	Sim
V.S.F.		Sepse precoce+meningite	<i>S. grupo D</i>	RPM	M	Sim
M.C.N.		Sepse precoce	<i>S. grupo B</i>	RPM+FIS+TF	M	Sim
M.S.S.		Sepse precoce+meningite	<i>E. coli</i>	RPM+FIS	F	Sim
M.R.P.		Sepse tardia+enterocolite necrosante	<i>S. aureus</i>	FIS	M	Não
E.D.S.		Sepse tardia+abscesso de pele	<i>S. aureus</i>	RPM	M	Não
S.R.S.		Sepse tardia+broncopneumonia	negativa	RPM	F	Não
S.M.		Sepse precoce	negativa	RPM+FIS	F	Sim

Tabela 2 – Fatores de risco para ocorrência de infecção dos 57 recém-nascidos

Fator de risco	IG ≥ 37 sem		IG 34-36 6/7 sem		IG < 34 sem		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
FIS	7	36,8	2	10,5	1	5,3	10	17,5
RPM	8	42,1	11	57,8	8	42,1	17	47,4
RPM+FIS	3	15,8	1	5,3	5	26,3	9	15,8
RPM+ITU	0	0,0	1	5,3	3	15,8	4	7,0
RPM+FM	1	5,3	1	5,3	0	0,0	2	3,5
RPM+FIS+FM	0	0,0	0	0,0	2	10,5	2	3,5
RPM+FM+TF	0	0,0	2	10,5	0	0,0	2	3,5
FIS+FM	0	0,0	1	5,3	0	0,0	1	11,8
Total	19	100,0	19	100,0	19	100,0	57	100,0

IG: Idade gestacional; FIS: Fisiometria; RPM: Ruptura prematura de membranas; ITU: Infecção de trato urinário; FM: Febre materna; TF: Taquicardia fetal.

## DISCUSSÃO

A ação de um microorganismo em um hospedeiro pode manifestar-se de diferentes formas, desde passar despercebida até produzir quadros graves e mesmo fatais. O feto que está imerso e protegido por fluido amniótico estéril intra-útero pode ser colonizado por microorganismos de várias maneiras: durante a passagem pelo canal do parto, através da pele, da mucosa digestiva, respiratória e conjuntiva, com a flora do trato genital materno<sup>26</sup>.

As bactérias podem invadir a cavidade amniótica por via ascendente, quando as membranas se rompem. Sarrut *et al.*<sup>27</sup> verificaram que, 12 horas após a ruptura, em 8% dos líquidos amnióticos analisados já havia crescimento bacteriano e, após 48 horas, esse crescimento estava presente em 52% das amostras analisadas, motivo por que o feto pode se contaminar, pela via pulmonar ou

digestiva, por aspiração ou ingestão de líquido amniótico, respectivamente.

Em nosso estudo, os fatores de risco mais frequentes foram a ruptura de membranas, seguida da fisometria ou de ambos fatores associados. A RPM, segundo relatos da literatura, é uma situação que pode promover infecção fetal e neonatal. St. Geme *et al.*<sup>20</sup> relataram que a incidência de sepsé documentada bacteriologicamente em RNs de mãe com RPM por mais de 24 horas é de aproximadamente 1,0%. Entretanto, quando sinais e sintomas de corioamnionite estão presentes, a incidência aumenta para 3% a 5%. No estudo de Boyer *et al.*<sup>28,29</sup>, a presença de bolsa rota por mais de 18 horas aumentava em quatro vezes o risco de infecção.

Detectamos incidência de sepsé precoce relacionada com a presença dos fatores de risco citados em 22,8%. Este valor, possivelmente, deve-se à associação de fatores como RPM e amnionite (fiso-

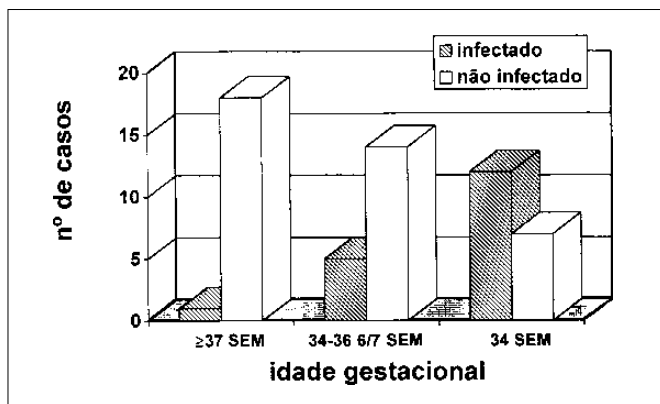
**Tabela 3 – Média de peso(g) RN de acordo com a idade gestacional e presença de infecção**

Infecção	Idade gestacional ≥ 37 semanas	34-36 6/7 semanas	<34 semanas
Não	3.198,3g ± 658,1	2.124,2g ± 372,8	1.442,8g ± 244,1
Sim	2.120g	1.616,0g ± 416,6	1.196,6g ± 254,2
Teste de Fischer=	não se aplica	p<0,01	p<0,01

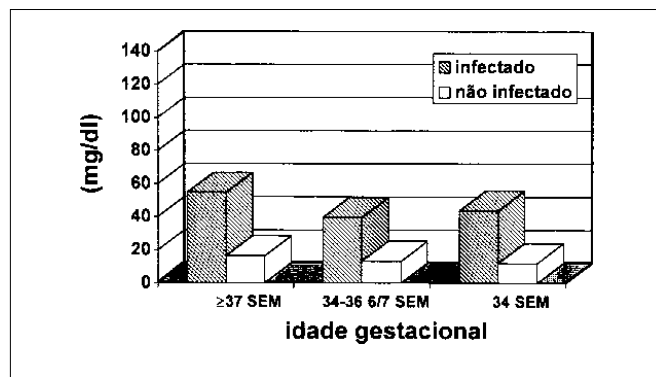
**Tabela 4 - Presença de Infecção nos 57 RN de acordo com a idade gestacional**

Infecção	Idade gestacional ≥ 37 semanas	34-36 6/7 semanas	<34 semanas	Total
Sim	1	5	12	18
Não	18	14	7	39
Total	19	19	19	57

$\chi^2 = 15,10$  (gl 2) p <0,01



**Gráfico 1** - Presença de infecção dos 57 recém-nascidos de acordo com a idade gestacional.



**Gráfico 2** - Níveis séricos médios de IgM ao nascimento dos recém-nascidos de acordo com a idade gestacional e presença de infecção.

metria) e, mais ainda, outro fator de risco muito importante, que é a prematuridade. Aliás, foi no grupo de menor idade gestacional que se verificou um maior número de infecções, tanto precoces como tardias. A deficiência imunológica encontrada nesses RNs, principalmente naqueles com idade gestacional inferiores a 34 semanas, é citada como um dos fatores de risco mais importantes para infecção neonatal<sup>30,31</sup>.

Na década de 1960, Washburn mostrou que o RN de sexo masculino tinha maior incidência de infecções (2 a 6 vezes mais), provavelmente devido a algum fator ligado ao sexo, com gene localizado no cromossomo X envolvido na função tímica ou produção de imunoglobulinas. Esse fato não foi observado neste estudo, no de Ceccon<sup>31</sup> e no de Araujo<sup>34</sup>.

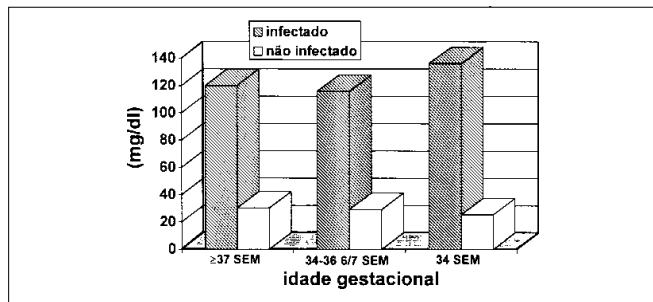
Como a maioria dos RNs eram adequados para a idade gestacional, provavelmente, a diferença de peso entre RNs infectados e sem infecção dentro de cada grupo deva-se a esta ocorrer nos de menor idade gestacional dentro do grupo e, portanto, também os de menor peso.

**IgM ao nascimento**

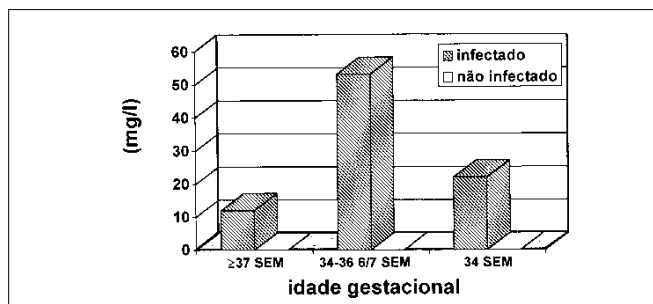
A IgM pode ser detectada laboratorialmente em soro fetal a partir da 20ª semana de gestação, portanto na vida intra-uterina existe capacidade para a síntese desta Ig atingindo ao nascimento níveis entre 10% e 20mg%, não havendo diferença entre RNT e RNPT<sup>35</sup>.

Quando analisamos os RNs com infecção e os não-infectados dentro de cada grupo de idade gestacional, verificamos que, no grupo I (inferiores a 34 semanas), os valores de IgM ao nascimento foram de 43,8mg% e 12,0mg%, respectivamente; no grupo II (entre 34 e 36 6/7 semanas), 39,7mg% e 13,1mg% e, no grupo III (igual ou superiores a 37 semanas), 54,6mg% e 16,3mg%. Havendo, portanto, diferença estatisticamente significativa entre infectados e não-infectados em todos os grupos (tabela7, gráfico 2). Quando analisamos os níveis de IgM de modo individual de todos os RNs infectados na tabela 9, verificamos que a elevação da média nos RNs infectados ao nascimento foi devida a três RNs no grupo I e um RN no grupo II que

Tabela 5 – Óbito por infecção de acordo com a idade gestacional dos recém-nascidos estudados			
<b>Idade gestacional ≥ 37 semanas</b>			
Infecção	Óbito		Total
	Não	Sim	
Não	18	0	18
Sim	1	0	1
Total	19	0	19
Teste de Fischer = não se aplica			
<b>Idade gestacional 34-36 6/7 semanas</b>			
Infecção	Óbito		Total
	Não	Sim	
Não	14	0	14
Sim	3	2	5
Total	17	2	19
Teste de Fischer = p<0,05			
<b>Idade gestacional &lt;34 semanas</b>			
Infecção	Óbito		Total
	Não	Sim	
Não	7	0	7
Sim	5	7	12
Total	12	7	19
Teste de Fischer = p<0,01			



**Gráfico 3** – Níveis séricos médios de IgM no 5º dia de vida dos recém-nascidos de acordo com a idade gestacional e presença de infecção.



**Gráfico 4** – Níveis plasmáticos médios de proteína C-reativa ao nascimento dos recém-nascidos de acordo com a idade gestacional e presença de infecção.

Tabela 6 – Infecção classificada em precoce e tardia de acordo com o aparecimento dos sintomas em dias de vida dos 18 recém-nascidos que apresentaram quadro infeccioso				
Infecção	Idade gestacional ≥ 37 semanas	34-36 6/7 semanas	<34 semanas	Total
Precoce <4 dias	1	4	8	13
Tardia	0	1	4	5
Total	1	5	12	18
Teste de Fischer = p=0,52 (não significante)				

tinham valores de IgM iguais ou superiores a 100mg%. Ressaltamos que 12 dos RNS infectados tinham níveis normais de IgM (inferiores a 20mg%) ao nascimento.

### IgM no quinto dia de vida

Os níveis séricos médios de IgM no quinto dia de vida dos RNS infectados e não-infectados foram elevados em relação àqueles do nascimento (tabela 7, gráfico 3); isto está de acordo com trabalhos que mostraram ser a síntese de IgM acelerada, após o nascimento<sup>36-38</sup>. Observamos que, nos RNS infectados dos três grupos, os níveis médios eram superiores a 100mg%. Quando analisamos os valores individualmente (tabela 10), verificamos que os que apresentaram sepse precoce tinham valores de IgM superiores a 100mg no

quinto dia, sugerindo, assim, que este valor seja sugestivo de infecção. Cederqvist<sup>39</sup> observou a relação entre RPM e produção fetal de IgM. Ismail e Yang<sup>40</sup> encontraram níveis elevados de IgM em RNS com antecedentes de RPM e concordam com a evidência imunológica de infecção com 12 a 24 horas de bolsa rota, mesmo sem a presença de coriamnionite.

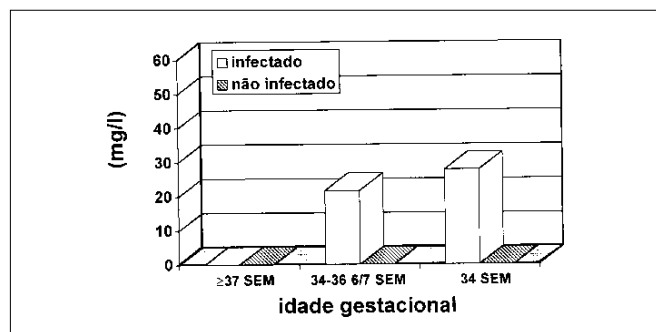
Como em nossa casuística a RPM e/ou fisometria estava presente em todos os RNS, naqueles que já apresentavam níveis muito elevados ao nascimento é possível que a infecção já estivesse presente, podendo ela ser a própria causa da RPM. A estimulação antigênica em nosso estudo foi muito intensa, já que mesmo RNPT atingiram níveis de IgM superiores a 100mg%, que seriam os níveis encontrados em um RNPT de um ano de idade, segundo estudo de Pinhata<sup>35</sup>.

**Tabela 7 – Níveis séricos médios de IgM dos recém-nascidos de acordo com a idade gestacional e presença de infecção**

Nascimento			
Idade gestacional	Infetado	Sem infecção	ANOVA
≥ 37 semanas	54,6mg%	16,3mg% ± 9,9	não se aplica
34-36 6/7 semanas	39,7mg% ± 47,4	13,1mg% ± 3,43	p<0,05
<34 semanas	43,8mg% ± 60,7	12,0mg% ± 0,86	p<0,01
Quinto dia de vida			
Idade gestacional	Infetado	Sem infecção	ANOVA
>37 semanas	119,9mg%	30,2mg% ± 18,21	não se aplica
34-36 6/7 semanas	115,7mg% ± 65,3	29,2mg% ± 16,7	p<0,01
<34 semanas	136,0mg% ± 68,1	25,4mg% ± 18,0	p<0,01

**Tabela 8 – Níveis plasmáticos médios de proteína C-reativa dos recém-nascidos de acordo com a idade gestacional e presença de infecção**

Nascimento		
Idade gestacional	Infetado	Sem infecção
>37 semanas	12mg/L	<6mg/L não se aplica
34-36 6/7 sem.	53,2mg/L ± 77,9	<6mg/L T. Fischer = p<0,01
<34 semanas	22mg/L ± 14,7	<6mg/L T. Fischer = p<0,01
Quinto dia de vida		
Idade gestacional	Infetado	Sem infecção
>37 semanas	<6mg	<6mg/L não se aplica
34-36 6/7 sem.	21,6mg/L ± 22,0	<6mg/L T. Fischer = p<0,01
<34 semanas	27,7mg/L ± 17,83	<6mg/L T. Fisher = p<0,01



**Gráfico 5 – Níveis plasmáticos médios de proteína C-reativa no 5º dia de vida dos recém-nascidos de acordo com a idade gestacional e presença de infecção**

Os níveis de IgM em trabalhos da literatura não se mostraram indicadores de infecção ao nascimento, já que mesmo aqueles RNs com níveis inferiores a 20mg% apresentavam infecção e outros com níveis superiores a 20mg%, com o passar do tempo, não se mostraram sintomáticos. Parece-nos que o nível representativo de infecção, tanto ao nascimento como no quinto dia de vida, seja igual ou superior a 100mg%.

Ressaltamos que níveis normais ao nascimento, mesmo em RNs com fatores de risco para infecção, não a afasta, devendo ser realizado um novo exame no quinto dia de vida, pois pode não ter tido tempo suficiente para sua elevação se a estimulação antigênica tiver ocorrido imediatamente antes do parto.

A evidência de que para aumentar os níveis de IgM é necessário um certo tempo após estimulação antigênica é verificada naquelas crianças (tabela 9) com infecção tardia nas quais os níveis de IgM ao nascimento eram inferiores a 20mg%, e, no quinto dia, mesmo que todas elas tenham aumentado seus níveis de IgM, apenas dois do grupo inferior a 34 semanas atingiram níveis iguais ou superiores a 100mg%. Isto significa que o estímulo antigênico, provavelmente, aconteceu depois do nascimento e essas crianças de-

veriam ter, novamente, verificados seus níveis de IgM depois de certo tempo, para observar o seu aumento.

Entre os parâmetros não específicos que podem ser usados como marcadores de infecção, utilizamos a proteína C-reativa (PCR) por ser este exame o que tem sido mais valorizado nos trabalhos de triagem para infecção neonatal<sup>12,18,41</sup>.

A proteína C-reativa não atravessa a placenta e o encontro desta no sangue colhido ao nascimento é de produção fetal. Da mesma maneira que a IgM, ela pode ser sintetizada mesmo por RNs muito prematuros, os quais respondem com aumento dos seus níveis séricos diante de uma lesão tecidual, que no RN representa, na maior parte das vezes, um agravo infeccioso<sup>9,42,43</sup>.

Entre os vários métodos de dosagem, os mais conhecidos são o radioimunoensaio, a imunodifusão radial, a nefelometria a laser e o teste de aglutinação do látex. Neste estudo, utilizamos o teste de aglutinação do látex semiquantitativo por ser de fácil execução. Baseamo-nos no trabalho de Salzer *et al.*<sup>44</sup>, no qual esse método foi utilizado em casuística semelhante à nossa ou, seja, em RNs com fatores de risco para infecção neonatal precoce.

**Tabela 9 – Níveis séricos de IgM ao nascimento e no 5º dia dos recém-nascidos que apresentaram infecção de acordo com a idade gestacional**

Idade gestacional	Infecção precoce		Infecção tardia	
	nascimento	5º dia	nascimento	5º dia
<i>&gt;37 semanas</i>				
I.S.B.	54,6 mg%	119,0mg%		
<i>34-36 6/7 semanas</i>				
I.J.S.	46,2mg%	112,0mg%		
A.P.S.	120,0mg%	160,0mg% óbito c/6d		
E.G.Q.	10,1mg%	112,0mg%		
L.F.O.	12,4mg%	182,0mg%		
M.J.S.L.			10,1mg% óbito c/ 10 d.	12,4mg%
<i>&lt; 34 semanas</i>				
J.E.S.	10,1mg %	óbito 3 d.		
S.I.S.	138,0mg %	189,0 mg%		
S.F.J.	182,0mg %	óbito 2 d.		
V.O.	101,0mg %	óbito 3 d.		
V.S.F.	10,1mg %	182,1mg% - óbito 8 d.		
M.C.C.	10,1mg %	óbito 2 d.		
M.S.S.	12,0mg %	229,0mg% - óbito 7 d.		
S.M.	17,5mg %	120,0mg% - óbito 6 d.		
E.C.V.			12,4mg%	167,0mg%
M.R.P.			10,0mg%	55,3mg%
E.D.S.			10,1mg%	112,3mg%
S.R.S.			12,4mg%	33,0mg%

**Tabela 10 – Níveis plasmáticos de proteína C-reativa ao nascimento e no 5º dia de vida dos recém-nascidos que apresentaram infecção de acordo com a idade gestacional**

Idade gestacional	Infecção precoce		Infecção tardia	
	nascimento	5º dia	nascimento	5º dia
<i>&gt;37 semanas</i>				
I.S.B.	12mg/L	<6mg/L		
<i>34-36 6/7 semanas</i>				
I.J.S.	24mg/L	<6mg/L		
A.P.S.	20mg/L	48mg/L - óbitos c/ 6d		
E.G.Q.	192mg/L	48 mg/L		
L.F.O.	24mg/L	<6mg/L		
M.J.S.L.			<6mg/L	24 mg/L-óbito c/ 10 dias
<i>&lt;34 semanas</i>				
J.E.S.	24mg/L	óbito 3 dias		
S.I.S.	24mg/L	<6mg/L		
S.F.J.	48mg/L	óbito 2 dias		
V.O.	48mg/L	óbito 3 dias		
V.S.F.	24mg/L	48mg/L-óbito c/ 8 dias		
M.C.C.	24mg/L	óbito 2 dias		
M.S.S.	24mg/L	48mg/L-óbito c/ 7 dias		
S.M.	24mg/L	48mg/L óbito c/ 6 dias		
E.C.V.			<6mg/L	24mg/L
M.R.P.			<6mg/L	12mg/L
E.D.S.			<6mg/L	24mg/L
S.R.S.			<6mg/L	12mg/L

### Proteína C-reativa ao nascimento

Analisando os níveis plasmáticos médios da proteína C-reativa, podemos observar que estes foram inferiores a 6mg/L (tabela 8, gráfico 4), nível considerado normal nos RNS não-infectados nos três grupos de idade gestacional, e superiores a 6mg/L

nos RNS infectados nos três grupos de idade gestacional: grupo I (inferior a 34 semanas), 22,0mg/L; grupo II (entre 34 e 36 6/7 semanas), 53,2mg/L; e grupo III (igual ou superior a 37 semanas), 12,0mg/L — havendo forte associação estatística entre seu valor superior aos níveis normais e presença de infecção.



Constatamos que dos 18 RNS com infecção, 17 eram prematuros, dos quais 12 tinham idade gestacional inferior a 34 semanas, o que confirma a capacidade de produção desta proteína, mesmo em RNS muito prematuros.

Sabel e Hanson<sup>45</sup> observaram que 85% dos RNS com diagnóstico de sepse e meningite tinham proteína C-reativa positiva durante as primeiras horas após o início dos sinais clínicos da infecção, sugerindo forte correlação entre presença dessa proteína e infecção, como também sua rápida produção. Posteriormente, Sabel e Wasworth<sup>43</sup> observaram que em 16 de 18 RNS (89%) com idade gestacional entre 27 e 36 semanas, portadores de sepse, tinham proteína C-reativa positiva. Nesse mesmo trabalho, quatro RNS com sepse e meningite já tinham níveis elevados dessa proteína com uma hora de vida.

Em nossa casuística, todos os RNS tinham pelo menos um fator de risco para infecção e, entre os 18 que se tornaram sintomáticos, 11 deles tinham mais do que um fator de risco associado (tabela 1), fato que nos leva a crer que o estímulo para a produção de proteína C-reativa, através das interleucinas, possa ter ocorrido antes do nascimento. Essa hipótese está de acordo com o estudo de Salzer *et al.*<sup>44</sup>, no qual os autores observaram que de 25 RNS, cujas mães tinham RPM e/ou amnionite clínica, dez apresentaram positividade para proteína C-reativa pelo teste de aglutinação do látex, com seis horas de vida, e todos estes mostraram sintomatologia infecciosa posterior.

Salientamos que, em nosso estudo, todos os RNS com infecção tinham níveis superiores a 10mg/L. Geralmente, em condições normais, os resultados são inferiores a 10mg/L, fato este comprovado por Ainbender *et al.*<sup>9</sup>, em 65 RNT sadios cujo sangue tinha sido também colhido do cordão umbilical.

### Proteína C-reativa no quinto dia de vida

A proteína C-reativa permaneceu em níveis inferiores a 6mg/L no quinto dia, em todos os RNS que não se infectaram (tabela 8, gráfico 5), com exceção de um RN do grupo entre 34-36 6/7 semanas e quatro RNS do grupo inferiores a 34 semanas (tabela 10), nos quais essa proteína estava positiva só no quinto dia de vida. Esses RNS apresentavam clínica de infecção e a hemocultura do RN do primeiro grupo foi positiva para *S. aureus*, indo a óbito com dez dias de vida, e os quatro RNS do grupo inferiores a 34 semanas mostraram hemoculturas com *Klebsiella sp.* (1), *S. aureus* (2), e em um dos RNS a hemocultura foi negativa. Esses tipos de germes e a clínica tardia com o primeiro exame de

proteína C ao nascimento normal leva-nos a pensar que a infecção tenha sido adquirida no berçário, sendo, portanto, considerada como tardia.

Chamou-nos a atenção o fato de que no exame do quinto dia de vida a proteína C era inferior a 6mg/L em quatro RNS daqueles com sepse precoce que evoluíram bem do processo infeccioso. No entanto, em quatro RNS, um do grupo entre 34-36 6/7 e três do grupo superiores a 34 semanas que morreram durante a primeira semana, a proteína C-reativa havia aumentado seus níveis no quinto dia de vida. Quatro RNS do grupo inferiores a 34 semanas que tiveram sepse precoce morreram antes do quinto dia de vida e não houve tempo de saber se os níveis desta proteína teriam aumentado ou não na segunda colheita (tabela 10). Observamos que um RN do grupo entre 34-36 6/7 semanas que apresentou sepse precoce com níveis de proteína C-reativa de 192mg/L ao nascimento, no quinto dia era ainda acima do normal, porém os níveis tinham diminuído para 48mg/L, significando uma melhora do processo infeccioso, tanto que esse RN não foi a óbito.

Sann *et al.*<sup>41</sup> e Philip<sup>15</sup> citam que a proteína C eleva-se rapidamente na presença de infecção e, quando há boa evolução, os níveis diminuem no terceiro dia após início de tratamento (quando há boa resposta terapêutica), o que está de acordo com nossos achados.

No momento, sabe-se que a PCR é uma beta-globulina com várias atividades biológicas, conforme descreveram Schultz e Arnold<sup>46</sup>. Ela tem, praticamente, as mesmas propriedades de uma Ig nas defesas do hospedeiro. Estudos experimentais de Zahedi *et al.*<sup>47</sup> demonstraram receptores específicos para essa proteína na membrana dos PMN, e salientaram que esses locais seriam diferentes dos receptores da fração Fc das Ig. Este fato mostra a importância dessa proteína na resposta inflamatória, aumentando a quimiotaxia e fagocitose das bactérias pelas células fagocitárias. Essa proteína também consegue ativar, por si só, a via clássica do complemento, ação esta também semelhante às das Ig. Da nossa casuística, podemos deduzir que, naqueles pacientes que normalizaram a proteína C no quinto dia de vida, o estímulo inflamatório, provavelmente, já tinha diminuído, ao passo que, nos pacientes em que ela elevou seus níveis, esse processo ainda continuava e se relacionou com má evolução. No estudo de Peltola *et al.*<sup>48</sup> e Philip<sup>15</sup>, observou-se que a manutenção de níveis elevados de proteína C-reativa indicaria terapia inadequada ou complicações da doença.

Estudos da literatura que utilizaram a proteína C como marcador de infecção neonatal enfatizaram

que a negatividade da PCR tem valor preditivo negativo para infecção próximo a 100%, porém que seu valor preditivo positivo era baixo porque algumas condições clínicas, como asfixia perinatal, hemorragia intraventricular e periventricular, hiperbilirrubinemia, desconforto respiratório, trauma de parto, necrose do tecido umbilical, cânulas de intubação, aspiração de mecônio e a própria RPM poderiam aumentar seus níveis de maneira significativa<sup>9,49-51</sup>.

Pesquisas de Schouten *et al.*<sup>52</sup> com 151 RNs com idade gestacional entre 25 e 42 semanas, separados em grupos que tinham as condições clínicas acima citadas, não encontraram nenhuma diferença entre os grupos estudados, e os níveis não ultrapassaram, na maior parte das vezes, 10mg/L. Assim, esses autores consideram a proteína C-reativa teste discriminativo de infecção no RN, fato que nós também consideramos, desde que foi o melhor marcador precoce e mesmo tardio de infecção em nosso estudo. Consideramos muito importante sua dosagem seriada, já que nos fornece dados sobre a evolução da doença, quer para uma cura, como na casuística de Squire *et al.*<sup>53</sup> e Poucyrous *et al.*<sup>54</sup>, quer para complicações, como na casuística de Peltola<sup>48</sup>.

## CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho permitiram-nos chegar às seguintes conclusões: em recém-nascidos com fatores de risco para infecção como os citados nesta casuística, a inclusão da dosagem de níveis séricos de IgM e de proteína C-reativa entre os exames auxiliares no diagnóstico de sepsis foram de muita utilidade. A proteína C-reativa mostrou-se o melhor indicador de infecção, revelando-se esta prova confiável para seguimento clínico no quinto dia de vida, e naqueles casos que apresentaram infecção tardia foi a primeira prova a se mostrar alterada.

## SUMMARY

### Immunological indicators (IgM and C-reactive protein) in neonatal infections

*Sepsis in the neonatal age is associated with risk factors for infections and with the immunological state of the newborn infant.*

*BACKGROUND. Verify if IgM and C-reactive protein were indicators of infection in newborn infants with risk factors.*

*MATERIAL AND METHODS. We studied 57 newborn infants that had: premature rupture of amniotic membranes associated or no with clinical amniotits or with urinary tract infection. They were*

*classified in three gestational age groups (<34 weeks, between 34-36 6/7 and (37 weeks) Sepsis diagnosis was made through clinical and laboratorial criterious and we also included: IgM and C-reactive protein obtained of the newborn at birth and at fifth day of life.*

*RESULTS. Sepsis diagnosis was made in 18 (31.5%) of 57 newborn infants, 13 (22.8%) with early sepsis and 5 (8.7%) with late sepsis. The infection had statistical association with gestational age and with weight at birth. The gestational group <34 weeks was more infected and in this group the number of newborn that died had association with infection. We did not observed association in the three groups studied between infection and sex. There were significant differences of levels of IgM between infected and not infected newborn infants in the same group of gestational age, this difference was more evident in the fifth day. There were association between levels of C-reactive protein >10mg/L and infection in the three groups studied.*

*CONCLUSION. C-reactive protein was the better indicator of infection at birth and in the fifth day of life and this was very important for the clinical evolution of the infection and in the late sepsis was the first prove that was altered. [Rev Ass Med Brasil 1998; 44(3): 185-95.]*

KEY WORDS: Newborn infant. Sepsis. Immunoglobulin M. C-reactive protein.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Am Intern Med* 1991; 115: 457-69.
2. Pichicheiro MD, Todd JK. Detection of neonatal bacteremia. *J Pediatr* 1979; 94: 958-60.
3. Squire E, Favara B, Tood J. Diagnosis of neonatal bacterial infection: hematologic and pathologic findings in fatal and nonfatal cases. *Pediatrics* 1979; 64: 60-4.
4. Visser VE, Hall RT. Lumbar pucture in the evaluation of suspected neonatal sepsis. *J Pediat* 1980; 96: 1.063-6.
5. Visser VE, Hall RT. Urine culture in the evaluation of suspected neonatal sepsis. *J Pediat* 1979; 94: 635-8.
6. 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; 75: 89-98.
7. Benuk I, David RJ. Sensivity of published neutrophil indexes in identifying newborn infants with sepsis. *J Pediatr* 1983; 103: 961-3.
8. Merlob P, Amir J, Zaizov R, Reisner SH. The differential leukocyte count in full-term newborn infants with meconium aspiration and neonatal asphyxia. *Acta Paediatr Scand* 1980; 69: 779-80.
9. Ainbender E, Cabatu EE, Guzman MD *et al.* Clinical and laboratory observation: serum C-reactive protein and problems of newborn infants. *J Pediatr* 1982; 101: 438-40.
10. Mather NJ, Polhanddt F. Diagnostic audit of C-reactive protein in neonatal infection *Eur J Pediatr* 1987; 146: 147-51.

11. Philip AGS. Decreased use of antibiotics using a neonatal sepsis screening technique. *J Pediatr* 1981; 98: 795-9.
12. Philip AGS, Hewitt JR. Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatrics* 1980; 65: 1.036-41.
13. Adler SM, Denton RL. The erythrocyte sedimentation rate in the newborn period. *J Pediatr* 1975; 6: 942-8.
14. Gerdes JS, Polin RA. Sepsis screen in neonates with evaluation of plasma fibronectin. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 443-6.
15. Philip AGS. Response of C-reactive protein in neonatal Group B streptococcal infection. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4: 145-9.
16. Guillois B, Berhou C, Awad H *et al.* The importance of C3d estimation in the diagnosis of generalizes bacterial infections in newborn infants. *Acta Paediatr Scand* 1989; 78: 369-72.
17. Humbert JR, Kurtz ML, Hathaway WE. Increased reduction of nitroblue tetrazolium by neutrophils of newborn infants. *Pediatrics* 1970; 45: 125-8.
18. Kite P, Millar MR, Gorham P *et al.* Comparison of five tests used in diagnosis of neonatal bacteraemia. *Arch Dis Child* 1988; 63: 639-43.
19. Kleiman B, Reynolds JK, Schreiner RL *et al.* Rapid diagnosis of neonatal bacteremia with acridine orange-stained buffy coat smears. *J Pediatr* 1984; 104: 419-21.
20. St. Geme JW, Murray DL, Carter J *et al.* Perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes: an analysis of risk and management. *J Pediatr* 1984; 104: 608-13.
21. Gibbs RS. Premature rupture of membranes: intraamniotic infection. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9: 776.
22. Capurro H, Konichsky W, Fonseca D. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978; 93: 120-2.
23. Dubowitz LM, Dubowitz V, Goldberg C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1970; 77: 1-10.
24. Ramos JLA. *Avaliação do crescimento intra-uterino por medidas antropométricas do recém-nascido*. São Paulo, 1983. Tese de doutorado apres. à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
25. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 1965; 2: 235-54.
26. Klein JO, Marcy SM. Bacterial sepsis and meningitis. In Remington JS, Klein JO (eds). *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia, WB Saunders, 1990; 601-56.
27. Sarrut S, Narbouton R, Charlas J *et al.* Mecanismos de linfection materno-foetale. *Médecine Infantile* 1979; 86: 591-603.
28. Boyer KM, Gadzala CA, Burd LI *et al.* Selective intrpartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early onset disease. I. Epidemiologic rationale. *J Infect Dis* 1983; 148: 795-801.
29. Boyer KM, Gadzala CA, Kellay PD *et al.* Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures. *J Infect Dis* 1983; 148: 802-9.
30. Yoder MC, Polin RA. Immunotherapy of neonatal septicemia. *Pediatr Clin North Am* 1986; 33: 481-99.
31. Cecon MEJ. *Marcadores imunológicos (imunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, complemento total, proteínas reguladoras do complemento, proteína C-reativa) em recém-nascidos com fatores de risco para infecção precoce*. São Paulo, 1995. Tese de doutorado apres. à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
32. Wasburn TC, Medeaaris DN, Childs B. Sex differences in susceptibility to infections. *Pediatrics* 1965; 35: 57-64.
33. Schlegel RJ, Bellanti JA. Increase susceptibility of males to infection. *Lancet* 1996; 2: 826-7.
34. Araujo MCK. *Rotura prematura de membranas e infecção no período neonatal*. São Paulo, 1992. Dissertação de mestrado apres. à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
35. Pinhata MMM. *Níveis de imunoglobulinas no primeiro ano de vida de crianças nascidas a termo e pré-termo*. Ribeirão Preto, 1986. Dissertação de mestrado apres. à Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
36. Anderson U, Bird AG, Britton S *et al.* Humoral and cellular Immunity in humans studies at the cell levels from birth to two years of age. *Immunol Rev* 1981; 57: 5-38.
37. Ballou M, Lynn-Cates K, Rowe JC *et al.* Development of the immune system in very low birth weigh (less than 1500g) premature infants: concentrations of plasma immunoglobulins and patterns of infections. *Pediatr Res* 1986; 20: 899-904.
38. Evans HE, Akpata SO, Glass L. Serum immunoglobulin levels in premature and full-term infants. *AJCP* 1971; 56: 416-8.
39. Cederwist LL, Francis LC, Zervoudakis IA *et al.* Fetal immune response following prematurely ruptures membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 1975; 126: 312-27.
40. Ismail MA, Yang SL, Abusharif ANL *et al.* Immunoglobulins in prolonged ruptures membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153: 390-3.
41. Sann L, Bienvenu F, Bienvenu J *et al.* Evolution of serum prealbumin, C-reactive protein, and orosomucoïd in neonates with bacterial infection. *J Pediatr* 1984; 105: 977-81.
42. Hansson LA, Jodal U, Sabel KG *et al.* The diagnostic value of C-reactive protein. *Pediatr Infect Dis* 1983; 2: 87-90.
43. Sabel KG, Wasworth CH. C-reactive protein (CRP) in early diagnosis of neonatal septicemia. *Acta Paediat Scand* 1970; 68: 825-31.
44. Salzer HR, Genger H, Muhar U *et al.* C-reactive protein: an early marker for neonatal bacterial infection due to prolonged rupture of amniotic membranes and/or amnionitis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 365-7.
45. Sabel KG, Hawson LA. The clinical usefulness of C-reactive protein (CRP) Determination in bacterial meningitis and septicemia in infancy. *Acta Paediat Scand* 1974; 63: 381-8.
46. Schultz DR, Arnold PI. Properties of four acut phasse proteins: an early marker for neonatal bacterial infection due to prolonged rupture of amniotic membranes and/or amnionitis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 365-7.
47. Zahedi k, Tebo JM, Siripont J *et al.* Binding of human C-reactive protein to mouse macrophages is mediatres by distinct receptors. *J Immunol* 1989; 142: 2.392-4.
48. Peltola H, Luhtala K, Valmari P. C-reactive protein as a detector of organic complications during recovery from childhood purulent meningitis. *J Pediatr* 1984; 104: 869-72.
49. Forest JC, Lariviere F, Doce PM *et al.* C-reactive protein as biochemical indicator of bacterial infection in neonates. *Clin Biochem* 1986; 19: 192-4.
50. Kaapa P, Koistinen E. Maternal and neonatal C-reactive rprotein afgter interventions during delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993; 72: 5.433-6.
51. Wasunna A. C-reactive protein and bacterial infection ion preterm infants. *Eur J Pediatr* 1990; 149: 424-7.
52. Shouten NYN, Rietveld A, Moolenaar AJ *et al.* Clinical and laboratory observations. Influence of perinatal contitions on C-reactive protein production. *J Pediatr* 1992; 120: 621-4.
53. Squire EN, Reich HM, Merenstein GB *et al.* Criteria for the discontinuation of antibiotic therapy duruin presumptive treatment of supected neonatal infection. *Pediatr Infect Dis* 1982; 1: 85-90.
54. Poucyrous M, Bada HS, Sheldon BK *et al.* Significance of serial C-reactive protein responses in neonatal infection and other disorders. *Pediatrics* 1993; 92: 431-5.