

ARTIKEL ASLI



ERITROSIT BERINTI SEBAGAI ALAT PENUNJANG DIAGNOSIS ASIDOSIS PADA ASFIKZIA NEONATORUM

Farid Agung Rahmadi¹⁾, M Sholeh Kosim¹⁾, Gatot Irawan Sarosa¹⁾

NUCLEATED RED BLOOD CELL AS DIAGNOSTIC TOOL FOR ACIDOSIS IN NEONATAL ASPHYXIA

ABSTRACT

Background: Neonatal asphyxia is the major cause of neonatal death, which is 19% from 5 million life births in one year. Asphyxia leads to hypoxia, hypercapnia, and acidosis. The gold standard for acidosis examination is arterial pH that cannot be done in the limited facilities. Hypoxia causes the increasing of red blood cell and nucleated red blood cell (nRBC) due to the compensation of oxygen demand. It has positive correlation with the severity of hypoxia. Nucleated red blood cell examination available in the limited facilities with blood smear examination. The purpose of this study was to prove that nRBC can be used as diagnostic tool for acidosis in neonatal asphyxia.

Methods: This is a diagnostic test study. Asphyxia was determine with Apgar score, acidosis by pH in blood gas analysis examination, and nRBC determine with blood smear. Statistical analysis used Spearman's test, ROC, X², sensitivity, specificity, positive and negative predictive value. The data were analyzed with computer program.

Results: The subjects were 49 neonates with asphyxia which are 23 of them got acidosis. There is a correlation between nRBC and acidosis ($p < 0.0001$), with moderate correlative value ($r = -0.516$). nRBC 7/100 White blood cell (WBC) has sensitivity and specificity 82.6% and 69.2% respectively, positive and negative predictive value 70.4% and 81.8% respectively.

Conclusions: There is a moderate negative correlation between nRBC and acidosis. nRBC value 7/100 WBC can be used as diagnostic tool for acidosis in neonatal asphyxia.

Key words: nRBC, acidosis, asphyxia

ABSTRAK

Latar belakang: Asfiksia neonatorum merupakan penyebab utama kematian neonatus. Asfiksia mengakibatkan hipoksia, hiperkapnia, dan asidosis. Baku emas pemeriksaan asidosis adalah dengan pH darah arteri. Hipoksia memicu terjadi peningkatan jumlah eritrosit dan eritrosit berinti. Peningkatan jumlah ini bertujuan untuk meningkatkan oksigenasi jaringan dan berbanding lurus dengan semakin beratnya hipoksia. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan jumlah eritrosit berinti dapat menjadi alat penunjang diagnosis asidosis pada asfiksia neonatorum

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik. Asfiksia ditentukan dengan nilai Apgar, asidosis ditentukan dengan pH dari pemeriksaan analisis gas darah, dan eritrosit berinti diperiksa menggunakan preparat darah apus. Analisis statistik menggunakan uji Spearman's, ROC, X², sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif. Analisis data menggunakan program komputer.

Hasil: Subyek penelitian berjumlah 49 neonatus asfiksia dengan jumlah bayi yang mengalami asidosis sebanyak 23. Terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah eritrosit berinti dengan asidosis ($p < 0,0001$), dengan nilai korelasi sedang ($r = -0,516$). Jumlah eritrosit berinti 7/100 leukosit memiliki sensitivitas dan spesifisitas sebesar 82,6% dan 69,2%, NDP dan NDN sebesar 70,4% dan 81,8%.

Simpulan: Terdapat hubungan sedang negatif antara jumlah eritrosit berinti dengan asidosis. Jumlah eritrosit berinti 7/100 leukosit dapat digunakan sebagai alat penunjang diagnosis asidosis pada asfiksia neonatorum.

Kata kunci: Eritrosit berinti, asidosis, asfiksia

¹⁾ Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr .Kariadi Semarang

PENDAHULUAN

Asfiksia neonatorum merupakan penyebab utama kematian bayi baru lahir selain infeksi dan prematuritas.¹⁻³ Asfiksia menjadi penyebab kematian sebesar 19% dari lima juta bayi baru lahir di dunia setiap tahun.^{3,4} Di negara berkembang angka kejadian bayi asfiksia lebih tinggi akibat dari pelayanan antenatal yang kurang memadai. Di bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UI RSCM sebanyak 6,3% bayi per tahun mengalami asfiksia, dan 2,1% diantaranya lahir dengan asfiksia berat.³

Asfiksia neonatorum mengakibatkan hipoksia, hiperkapnia, dan asidosis.^{3,5} Asidosis dapat mengakibatkan sel-sel tubuh tidak berfungsi secara optimal, akibat selanjutnya dapat terjadi kerusakan susunan saraf pusat yang dapat mengakibatkan kecacatan permanen.^{6,7} Baku emas pemeriksaan asidosis adalah dengan menilai pH darah arteri melalui pemeriksaan analisis gas darah yang merupakan metode pemeriksaan dengan pengambilan spesimen yang invasif dan membutuhkan alat pemeriksaan yang canggih.⁸

Eritrosit berinti adalah eritrosit yang masih memiliki inti sel yang beredar di sirkulasi. Pada keadaan hipoksia terjadi peningkatan jumlah eritrosit dan eritrosit berinti. Peningkatan jumlah eritrosit berinti berbanding lurus dengan semakin beratnya hipoksia yang terjadi.⁹ Pemeriksaan jumlah eritrosit berinti dilakukan dengan pembacaan preparat darah apus dapat dilakukan di hampir semua tempat pelayanan kesehatan menggunakan alat dan metode yang sederhana.¹⁰

Banyak bayi baru lahir dengan asfiksia yang mengalami asidosis tidak terdiagnosa dengan baik karena pemeriksaan analisis gas darah hanya dapat dilakukan di rumah sakit dengan fasilitas lengkap. Dengan diketahuinya jumlah eritrosit berinti untuk menentukan adanya asidosis maka dapat menjadi dasar untuk memperkirakan terjadinya asidosis pada bayi asfiksia di rumah sakit dengan fasilitas sederhana. Menimbang pentingnya menentukan adanya asidosis pada neonatus yang mengalami asfiksia maka perlu dilakukan penelitian tentang penghitungan jumlah eritrosit berinti dalam menentukan asidosis pada asfiksia neonatorum. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan jumlah eritrosit berinti dapat menjadi alat penunjang diagnosis asidosis pada asfiksia neonatorum.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik dengan baku emas nilai pH darah dari analisis gas darah. Penelitian dilakukan di RSUP Dr. Kariadi selama bulan September 2012 sampai dengan Januari 2013. Ijin penelitian didapatkan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan *Ethical Clearance* No.024/EC/FK/RSDK/2012. Persetujuan untuk diikutsertakan dalam penelitian dimintakan dari orang tua penderita secara tertulis dengan menggunakan *informed consent*.

Pengambilan sampel dilakukan secara konsekutif dengan jumlah 49 subyek, dengan kriteria inklusi bayi yang mengalami asfiksia sedang atau berat, usia gestasi ≥ 35 minggu, Kadar Hb bayi >12.0 g/dl, Jumlah leukosit bayi $5.000-25.000/\text{mm}^3$, lahir dari ibu tidak merokok, ibu tidak menderita diabetes melitus, anemia, leukemia, infeksi, *chorioamnionitis*, dan tidak mengalami perdarahan antepartum. Kriteria eksklusi meliputi inkompatibilitas ABO atau Rh, penyakit jantung bawaan sianotik pada bayi, dan ibu menderita infeksi TORCH.

Subyek yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan pengambilan darah dari vena umbilikalis segera setelah bayi lahir untuk dibuat preparat darah apus yang dipakai untuk menghitung jumlah eritrosit berinti. Sampel darah untuk analisis gas darah arteri diambil dari arteri radialis segera setelah resusitasi selesai. Pemeriksaan jumlah eritrosit berinti dilakukan oleh satu orang ahli patologi klinik. Petugas yang menghitung jumlah eritrosit berinti tidak mengetahui hasil nilai pH darah yang telah diperiksa.

Uji korelasi *Spearman's* dilakukan untuk mencari hubungan antara jumlah eritrosit berinti dengan status asidosis. Uji diagnostik menggunakan kurva ROC dan tabel 2×2 . Analisis statistik menggunakan program komputer.

HASIL

Terdapat 62 bayi mengalami asfiksia dan sebanyak 49 bayi memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Tabel 1 memperlihatkan karakteristik subyek penelitian.

Uji korelasi *Spearman*s dilakukan untuk menganalisis hubungan antara jumlah eritrosit berinti dengan variabel perancu dan hubungan antara jumlah eritrosit berinti dengan status asidosis. Tabel 2 menunjukkan terdapat hubungan dengan nilai korelasi lemah antara prematuritas dengan jumlah eritrosit berinti, sedangkan IUGR dan preeklamsia/eklamsia tidak memiliki hubungan dengan jumlah eritrosit berinti.

Analisis hubungan antara jumlah eritrosit berinti dengan status asidosis dilakukan dengan uji korelasi *Spearman*s. Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah eritrosit berinti dengan status asidosis ($p < 0,0001$) dengan nilai korelasi negatif sedang ($r = -0,516$).

Tabel 3 menunjukkan status keasaman darah subyek penelitian. Sebanyak 23(46,94%) bayi mengalami asidosis dengan $pH < 7,2$. Sebanyak 12(80,00%) bayi yang mengalami asfiksia berat berlanjut menjadi asidosis, dan sebanyak 23 (67,65%) bayi yang mengalami asfiksia sedang tidak berlanjut menjadi asidosis. Didapatkan perbedaan bermakna pada beratnya asfiksia dengan $p = 0,004$ pada subyek penelitian.

Variabel	n (%)	Rerata (SB)
Jenis kelamin		
Laki-laki	22 (44,90)	
Perempuan	1 (3,3%)	
Cara persalinan		
Spontan	13 (26,50)	
Tindakan	36 (73,50)	
Umur kehamilan (minggu)		36,77 (1,66)
Umur ibu (tahun)		29,31 (7,17)
Derajat asfiksia		
Asfiksia sedang	34 (69,40)	
Asfiksia berat	15 (30,60)	

Tabel 2. Analisis hubungan antara jumlah eritrosit berinti dengan variabel perancu

Variabel	p	Nilai korelasi
Prematuritas	0,038	$r = -0,298$
IUGR	0,699	$r = 0,057$
Preeklamsia dan eklamsia	0,394	$r = 0,124$

Dianalisis dengan uji korelasi *Spearman*s

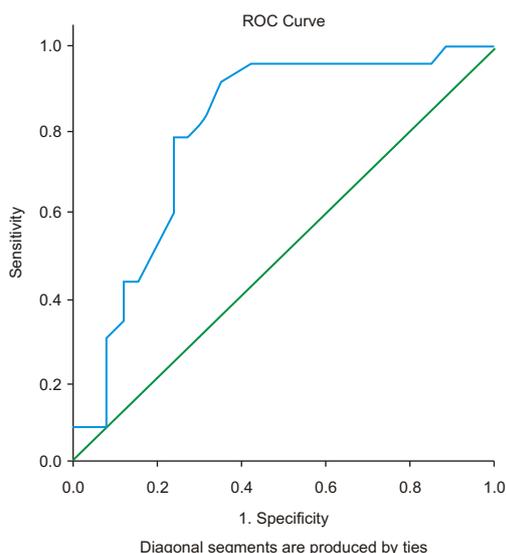
Tabel 3. Status keasaman darah subyek penelitian

Variabel	Rerata (SB) atau n (%)		p
	Asidosis (n=23)	Non asidosis (n=26)	
Jenis kelamin			
Laki-laki	10 (45,45%)	12 (54,55%)	0,851*
Perempuan	13 (48,14%)	14 (51,86%)	
Cara persalinan			
Spontan	7 (53,84%)	6 (46,16%)	0,560*
Tindakan	16 (44,44%)	20 (55,56%)	
Umur kehamilan (minggu)	36,61 (1,62)	36,92 (1,72)	0,514**
Umur ibu (tahun)	31,13 (6,44)	27,69 (7,52)	0,094**
Kadar Hb ibu (g/dl)	11,88 (1,02)	11,72 (0,48)	0,465**
Kadar leukosit ibu (/mm ³)	12204,35 (3924,12)	12825,00 (4140,99)	0,594**
Berat lahir (gram)	2365,65 (612,98)	2641,15 (567,64)	0,109**
Kadar Hb bayi (g/dl)	13,86 (1,36)	13,43 (1,23)	0,244**
Kadar Leukosit bayi (/mm ³)	15514,78 (5126,45)	14961,54 (5544,80)	0,720**
Derajat asfiksia			
Asfiksia sedang	11 (32,35%)	23 (67,65%)	0,004***
Asfiksia berat	12 (80,00%)	3 (20,00%)	

* Dianalisis dengan uji *Pearson Chi-Square*

** Dianalisis dengan uji *Independent sample T test*

*** Dianalisis dengan uji *Fisher's exact*



Gambar 1. Kurva RO

Gambar 1 menunjukkan kurva ROC dari jumlah eritrosit berinti sebagai uji diagnostik untuk asidosis dengan pH darah dari analisis gas darah sebagai standar baku emas. Area under curve (AUC) jumlah eritrosit berinti dibandingkan dengan pH darah adalah 0,80. Dari kurva ROC didapatkan beberapa nilai *cut off* potensial dari jumlah eritrosit berinti yang dilihat di tabel 4.

Dari beberapa nilai *cut off* yang potensial dilakukan analisis tabel 2x2. Jumlah eritrosit berinti 7/100 leukosit memiliki sensitivitas dan spesifisitas 82,6% dan 69,2%, nilai duga positif sebesar 70,4% dan nilai duga negatif sebesar 81,8% ditetapkan sebagai nilai yang paling baik sebagai alat skrining untuk diagnosis asidosis.

PEMBAHASAN

Selama penelitian bulan September 2012 Januari 2013 terdapat 49 bayi asfiksia sebagai subyek yang memenuhi kriteria penelitian.

Penelitian terdahulu dengan subyek sebesar 103 bayi, terdiri dari 52 bayi dengan asfiksia dan 51 bayi sebagai kontrol dengan umur gestasi antara 37–42 minggu.⁸ Prematuritas tidak dieksklusi dari penelitian ini karena keterbatasan jumlah bayi lahir aterm yang mengalami asfiksia. Penelitian ini tidak menyertakan bayi yang tidak asfiksia sebagai kontrol karena pemeriksaan analisis gas darah merupakan pemeriksaan penunjang yang invasif.

Rerata berat lahir bayi sebesar 2511,83(599,44) gram, berbeda dengan Shefer-Mimouni yang melakukan penelitian mengenai jumlah eritrosit berinti pada bayi lahir dari ibu dengan obesitas mendapatkan rerata berat lahir bayi sebesar 3199 (318) gram.¹¹ Bayi dengan berat lahir rendah tetap dimasukkan dalam subyek penelitian dengan IUGR sebagai variabel perancu. Umur ibu saat melahirkan memiliki rerata 29,31 (7,17) tahun, tidak termasuk ke dalam golongan ibu risiko tinggi, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Darkhaneh yang memiliki rerata umur ibu 27,17 (6,04) tahun.¹² Jumlah leukosit bayi penelitian ini memiliki rerata 12533,67(4010,83)/mm³, sesuai dengan penelitian Szwajcowska dengan rerata jumlah leukosit bayi yang lebih tinggi yaitu 19400(7,4)/mm³.¹³ Bayi dengan jumlah leukosit abnormal dikeluarkan dari penelitian karena selain infeksi dapat mempengaruhi peningkatan jumlah eritrosit berinti, penghitungan jumlah eritrosit berinti dapat terpengaruh karena dihitung berdasarkan per 100 jumlah leukosit.¹³

Pada penelitian ini didapatkan hubungan yang lemah antara eritrosit berinti dengan prematuritas. Sesuai dengan penelitian oleh Hermansen, prematuritas merupakan faktor fisiologis penyebab tingginya jumlah eritrosit berinti dibandingkan dengan bayi aterm.¹⁰ Pada penelitian tidak didapatkan hubungan antara eritrosit berinti dengan preeklamsia, dan eklamsia. Berbeda dengan Gasparovic dan Darkhaneh yang mendapatkan

Tabel 4. Sensitivitas, spesifisitas nilai duga positif dan nilai duga negatif dari beberapa nilai *cut off*

Jumlah eritrosit berinti (per 100 leukosit)	Sensitivitas	Spesifisitas	Nilai Duga Positif	Nilai Duga Negatif
7	82,6%	69,2%	70,4%	81,8%
8	78,3%	73,1%	72,0%	79,2%
9	78,3%	76,9%	75,0%	80,0%
10	73,9%	76,9%	73,9%	76,9%

peningkatan jumlah eritrosit berinti bayi yang lahir dari ibu dengan preeklamsia dan eklamsia.^{14,15} Kemungkinan penyebab perbedaan ini adalah perbedaan derajat preeklamsia atau eklamsia pada subyek penelitian bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian tidak didapatkan hubungan antara eritrosit berinti dengan IUGR. Berbeda dengan Minior dan Hermansen yang mendapatkan IUGR merupakan salah faktor penyebab peningkatan jumlah eritrosit berinti.^{10,16} Kemungkinan perbedaan ini dapat terjadi akibat dari faktor penyebab IUGR pada subyek penelitian tidak disebabkan karena hipoksia kronik, namun disebabkan karena faktor yang lain seperti status nutrisi maternal.

Terdapat perbedaan bermakna pada beratnya asfiksia antara bayi yang mengalami asidosis dan tidak asidosis. Sesuai dengan penelitian Ahmadpour yang mendapatkan perbedaan bermakna nilai Apgar menit pertama dan kelima pada bayi asidosis yang lahir dari ibu dengan kehamilan risiko tinggi.¹⁷ Penelitian ini mendapatkan hubungan yang bermakna antara jumlah eritrosit berinti dengan status asidosis. Peningkatan jumlah eritrosit berinti terjadi pada bayi dengan asidosis bila dibandingkan dengan bayi yang tidak asidosis. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Papa yang mendapatkan jumlah eritrosit berinti lebih tinggi pada bayi dengan asidosis.⁸ Sesuai dengan penelitian Tomar yang mendapatkan rerata eritrosit berinti $10,34 \pm 3,87883$ pada kelompok bayi asfiksia dengan pH $<7,1$ dan $5,7 \pm 2,33212$ pada kelompok bayi tidak asfiksia.¹⁸ Sesuai dengan penelitian Emmanuel yang mendapatkan hubungan yang bermakna antara jumlah eritrosit berinti dengan asidosis. Asidosis akan semakin berat seiring dengan semakin beratnya hipoksia yang terjadi.¹⁹ Hipoksia menyebabkan stimulasi terhadap eritropoietin yang menyebabkan peningkatan mitosis precursor eritrosit dan pelepasannya ke sirkulasi fetus.¹⁷

Hasil yang didapatkan dari kurva ROC berupa beberapa nilai *cut off* memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang baik. Hasil penelitian menunjukkan nilai jumlah eritrosit 7/100 leukosit memiliki sensitivitas 82,6% dan nilai duga negatif 81,8%. Sebagai alat skrining secara statistik jumlah eritrosit berinti 7/100 leukosit memiliki nilai sensitivitas yang lebih baik apabila dibandingkan dengan yang lain. Berbeda dengan penelitian Gea

yang melakukan penelitian terhadap bayi preterm, mendapatkan nilai sensitivitas dan spesifisitas jumlah eritrosit berinti 10/100 leukosit sebesar 50,0% dan 88,2%.²⁰

Berikut adalah beberapa keterbatasan dalam penelitian ini:

1. Pengambilan spesimen darah untuk analisis gas darah tidak memiliki keseragaman waktu karena proses resusitasi yang berbeda.
2. Prematuritas, IUGR, preeklamsia dan eklamsia sebagai variabel perancu tidak dapat disingkirkan dengan kriteria eksklusi.

SIMPULAN

Terdapat hubungan sedang negatif antara jumlah eritrosit berinti dengan asidosis.

Jumlah eritrosit berinti 7/100 leukosit memiliki nilai sensitivitas dan nilai duga negatif $>80\%$, serta spesifisitas dan nilai duga positif yang cukup sehingga dapat digunakan sebagai alat penunjang diagnosis asidosis pada asfiksia neonatorum.

Pada bayi baru lahir yang mengalami asfiksia di tempat dengan fasilitas terbatas, disarankan untuk dilakukan pemeriksaan jumlah eritrosit berinti segera setelah lahir untuk mendiagnosis asidosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gomella TL. Perinatal asphyxia. In: Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG, editors. Neonatology: Management, procedures, on-call problems, diseases, and drugs. 6 ed. New York: McGraw-Hill; 2009. p. 624-35.
2. Dharmasetiawani N. Asfiksia dan resusitasi bayi baru lahir. Dalam: Kosim MS, Yunanto A, Dewi R, Sarosa G, Usman A, editor. Buku ajar neonatologi. Jakarta: IDAI; 2008. h. 103-25.
3. Kosim MS. Gangguan napas pada bayi baru lahir. Dalam: Kosim MS, Yunanto A, Dewi R, Sarosa G, Usman A, editor. Buku ajar neonatologi. Jakarta: IDAI; 2008. h. 126-45.
4. Manoe V, Amir I. Gangguan fungsi multi organ pada bayi asfiksia berat. Sari Pediatri. 2005;5(2):72-8.
5. Orozco-Gregorio H, Mota-Rojas D, Alonso-Spilsbury M, González-Lozano M, Trujillo-Ortega M, Olmos-Hernández S, et al. Importance of blood gas measurements in perinatal asphyxia and alternatives to restore the acid base balance status to improve the newborn performance. Am J Biochem & Biotech. 2007;3(3):131-40.
6. Horne M, Heit U, SwearIngen H. Pocket guide to fluid, electrolyte, and acid-base balance. Missouri: Mosby-Year book Inc; 1997.
7. Malin GL, Morris RK, Khan KS. Strength of association between umbilical cord ph and perinatal and long term outcomes: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2010;340:1-13.
8. Papa D, Jyotsna P, Bhawana B. Cord blood nucleated red

- blood cell count - a marker of fetal asphyxia. *J Obstet Gynecol India*. 2008;58(1):45-8.
9. Dollberg S, Falnaru O, Mimouni FB, Shenhav M, Lessing BJ. Effect of passive smoking in pregnancy on neonatal nucleated red blood cells. *AAH*. 2000;106:e34.
 10. Hermansen M. Nucleated red blood cells in the fetus and newborn. *BMJ*. 2001;84:F211-F5.
 11. Sheffer-Mimouni G, Mimouni FB, Dollberg S, Mandel D, Deutsch V, Littner Y. Neonatal nucleated red blood cells in infants of overweight and obese mothers. *Journal of the American College of Nutrition*. 2007;26:259-63.
 12. Darkhaneh RF, Asgharnia M, Yousef TZ. Comparison of nRBC in term neonatal umbilical cord blood between neonate with meconium-stained amniotic fluid (MSAF) and clear amniotic fluid. *J Turkish-German Gynecol Assoc*. 2007;9(2):29-31.
 13. Szwajcowska M, Kalinka J, Krajewski P. Nucleated red blood cells (nRBC) as an auxiliary marker of intrauterine infection. *JPed Neonatal*. 2005;2(1):NT15-8.
 14. Gasparovic VE, Ahmetasevic SG, Colic A. Nucleated red blood cells count as first prognostic marker for adverse neonatal outcome in severe preeclamptic pregnancies. *Coll Antropol*. 2012;36(3):853-7.
 15. Darkhaneh RF, Ghanbari A, Asgharnia M, Kian M. Comparison of nucleated red blood cells in the umbilical cord of term neonates in healthy women and women with preeclampsia. *Iran J Reprod Med*. 2013;11(1):25-30.
 16. Minior VK, Shatzkin E, Divon MY. Nucleated red blood cell count in the differentiation of fetuses with pathologic growth restriction from healthy small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182(5):1107-9.
 17. Ahmadpour-Kacho M, Asnafi N, Javadian M, Hajiahmadi M, Taleghani NH. Correlation between umbilical cord pH and apgar score in high-risk pregnancy. *Iran J Pediatr*. 2010;20(4):401-6.
 18. Tomar G, Sikarwar S, Gupta S. The correlation of clinical perinatal asphyxia with counts of nrbc/100 wbc in cord blood. *WebmedCentral Obstetrics And Gynaecology*. 2011;2(1).
 19. Emmanuel R. Nucleated red blood cells as a marker of acidemia in term neonates [Dissertation]. Bangalore: St John Medical college and hospital 2006.
 20. Gea Y, Araujo O, Silva LVR. Clinical Value of lactate measurement and nucleated red blood cell counts in the placental segment of the umbilical vein of premature newborns for diagnosis of hypoxia-ischemia. *Jornal de Pediatria*. 2007;83(2):186-90.