

ANALISIS BACTERIOLOGICO Y BIOQUIMICO DE LIQUIDO AMNIOTICO EN PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS

Dr. Gerardo Escalante López
Jefe Dpto. Perinatología
Hospital Rafael A. Calderón Guardia

Dra. Sandra Rojas Alvarado
Dr. Edwin Ortiz Arosemena
Dr. Rafael Moya Sibaja
Médicos Residentes Postgrado en Medicina
Materno Fetal, U.C.R., Hosp. Calderón Guardia

M.Q.C. Olga Chávez M.
M.Q.C. Carlos Mora D.
Laboratorio Clínico Hosp. Calderón Guardia

INTRODUCCION

RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS (RPM)

Se considera aquella que ocurre antes del inicio de la labor. Ruptura de membranas que ocurre antes del inicio de la labor a una edad gestacional menor a la semana 37 se considera una RPM de prétermino.

La incidencia de RPM va de un rango de un 2 al 18% (1). Aunque recientes reportes hablan de un 10%(3). Este amplio rango de incidencia podría ser atribuido a diferencias en las poblaciones estudiadas.

El tapón mucoso cervical y la integridad del corioamnios protege al feto de la colonización e

infección de organismos presentes en la vagina. Cuando la membrana se rompe esta protección se pierde y la colonización puede ocurrir; por lo tanto se incrementa el riesgo de una infección resultante denominada Corioamniotitis, la cual juega un rol importante en la morbimortalidad perinatal. Los signos y síntomas clínicos de corioamniotitis ocurren relativamente tarde haciendo que el diagnóstico precoz de ésta sea difícil. La habilidad para clasificar el feto de alto riesgo de infección y el de menor riesgo, probablemente sería de gran ayuda ya que los primeros se beneficiarían con una evacuación temprana. El estudio bacteriológico y bioquímico de líquido amniótico por amniocentesis es una modalidad de gran ayuda para distinguir ambos factores.

Garite y colaboradores fueron los primeros en promover la utilización de la amniocentesis para valorar el estado microbiológico de la cavidad amniótica en mujeres con **RPM**. (4)
El diagnóstico de corioamniotitis es importante porque

la invasión microbiológica de la cavidad amniótica es un factor de riesgo de infección materna y neonatal. El cultivo de líquido amniótico ha sido utilizado como un medio de identificar pacientes con riesgo de morbilidad infecciosa (4,5,6,7,8,9). Debido a que los resultados de los cultivos no son inmediatos, técnicas rápidas de bajo costo tal como frotis con coloración de Gram (8,9,11), determinación de esterasa leucocitaria (12,17,18,20) y los niveles de glucosa (10,13,14,17) en líquido amniótico han sido propuestos como métodos de apoyo para el diagnóstico temprano de infección intramniótica.

En el presente estudio, se trató de establecer las características bioquímicas - bacteriológicas de líquido amniótico en mujeres con **RPM** y las diferencias con la población *no portadora de RPM*, con el fin de determinar su utilidad como parámetro inicial de infección intrauterina.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el Hospital Dr. Rafael Angel Calderón Guardia, Servicio de Obstetricia, Depto. de Medicina Materno-Fetal, San José, Costa Rica durante el periodo correspondiente entre el 6 de junio de 1994 al 15 de diciembre del mismo año.

Al estudio se incluyeron aquellas pacientes con diagnóstico confirmado de **RPM** entre las 27 y 36 semanas de embarazo. Este diagnóstico se realizó por examen clínico mediante especuloscopia, medición de pH vaginal con test de nitracina y la evidencia de disminución de líquido amniótico por ultrasonido.

Se excluyeron aquellas pacientes que presentaban signos francos de labor, infección ovular, sangrado vaginal, sufrimiento fetal u óbito fetal. Aquellas pacientes con diagnóstico de **RPM**, admitidas al estudio, se les manejó con las pautas de conducta expectante vigentes en nuestro departamento:

1. Reposo
2. Cruzado estéril
3. No se hacen tactos vaginales innecesarios

4. Exámenes de laboratorio cada 48 horas (leucograma, velocidad de eritrosedimentación, proteína C reactiva).
5. Determinación seriada de temperatura (graficado)
6. No uso de antibióticos antes de una confirmación de infección intrauterina.
7. Frotis y cultivo endocervical durante cada hospitalización.

Cada paciente con diagnóstico de **RPM**, cuyas pautas de manejo se mantenían dentro de límites normales egresaba con rehospitalización en un lapso de 10 días; volviéndose a realizar el manejo expectante en cada hospitalización.

A cada paciente admitida al estudio se le llenó un cuestionario con su seguimiento posterior. A su vez se le practicó una amniocentesis para el estudio bioquímico (nivel de glucosa y esterasa leucocitaria) y bacteriológico (frotis y cultivo) de líquido amniótico. Dicha amniocentesis se llevó a cabo bajo visión ultrasonográfica utilizando un equipo de ultrasonido Siemens SI-250 con transductores sectorial y lineal de 3.5 MHZ.

En cuanto existiera una sospecha clínica-bioquímica-bacteriológica de corioamnioitis se determinaba la interrupción del embarazo.

En las pacientes con **RPM** durante su labor se usó la monoterapia de antibióticos (cefalosporina de primera generación), y si existían datos de infección intrauterina, se utilizaba terapia múltiple (penicilina, aminoglucósido y clindamicina).

Para el diagnóstico clínico de Corioamnioitis se utilizaron los siguientes criterios diagnósticos: 1. temperatura mayor de 37.5 °C tomada en dos ocasiones con una diferencia de 1 hora, 2. taquicardia materna mayor de 100 lat. por minuto, 3. taquicardia fetal mayor de 160 lat. por minuto, 4. leucocitosis materna mayor de 15, 000 leucocitos por campo, 5. amniorrea fétida.

Se definió infección intrauterina como la presencia de un cultivo de líquido amniótico positivo (2).

Para estudios bacteriológicos de frotis con tinción de gram y cultivo se utilizaron los métodos

convencionales. Para la determinación de los niveles de esterasa leucocitaria y glucosa en líquido amniótico se utilizó la tira Combustest 10, Boehringer-Mannheim Diagnostics, Bio Dynamics Division.

Los resultados bacteriológicos - bioquímicos de líquido amniótico del grupo de pacientes con RPM fueron comparados con resultados de pacientes a las cuales se les practicó amniocentesis por razones diferentes a la RPM: a éstas se les llenó el mismo cuestionario y se les solicitaron los mismos exámenes que al grupo de pacientes con RPM.

Los datos de los cuestionarios fueron incluidos en el programa del CDC, Atlanta (EPINFO) utilizando para el análisis el riesgo relativo con un nivel de significancia del 95%, además el valor de p de Fisher para significancia estadística. Además se utilizaron los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo para evaluar las pruebas diagnósticas utilizadas en el análisis de las pacientes portadoras de RPM.

RESULTADOS

Un total de 48 pacientes fueron incluidas en el estudio. De las 48 pacientes, 22 tenían el diagnóstico de RPM mientras 26 correspondían a controles. A las 22 pacientes con RPM se les realizó 33 amniocentesis, siendo fallidas 3, para un porcentaje de éxito de 91%. A los controles se les realizó igual número de amniocentesis para un porcentaje de éxito del 100%. Hubo 2 controles las cuales tuvieron su parto fuera de esta institución.

Con respecto a los grupos poblacionales no hubo diferencias en relación a los promedios de la edad, alfabetismo y ocupación. Sólo una pequeña diferencia en los grupos de casadas se notó (casos 63.6% vs. controles 46.2%). Tabla 1.

En el número de controles prenatales sí fue significativa la diferencia ($.36 / 6 p = 0.0008$). En la edad gestacional promedio existió una marcada diferencia, justificable por el tipo de patología de los grupos ($31 = 7 \text{ sem} / 36.2 = 2.94 \text{ sem}$). Otra diferencia marcada fue el peso promedio neonatal ($924 \text{ gr} / 2734 \text{ gr } p = 0.00002$).

Tabla 1. *Variables Epidemiológicas.*

	Casos	Controles	Valor de p
Edad promedio	28.33 \pm 6.69 años	29.69 \pm 6.85 años	NS
Estado civil:casadas	63.6 %	46.2%	NS
Alfabetas	95.5 %	96.2 %	NS
Ocupación: oficios domésticos	68.2 %	69.2 %	NS
Embarazos previos	3.3 \pm 2.36	2.6 \pm 1.89	NS
Controles prenatales	3.6	6	0.0008
Edad gestacional	31 \pm 7 sem	36.2 \pm 2.94 sem	
Peso neonatal	1924 grs.	2734 grs.	0.00002
Índice de cesárea	27 %	58 %	

Tabla 2. *Factores de Riesgo*

	Riesgo relativo	Límite de confianza	Valor de p
Antecedente RPM personal	1.88	1.08-3.25	0.07
Antecedente RPM familiar	1.30	0.63-2.70	NS
Cervicovaginitis	1.17	0.63-2.15	NS
Tabaquismo	1.10	0.39-3.09	NS
Amniocentesis previa	1.10	0.39-3.09	NS
Infección urinaria	0.99	0.47-2.06	NS
Coito previo	3.23	1.87-5.58	0.00009

Dentro de los factores de riesgo para las pacientes con RPM sólo se observó una significancia estadística para el antecedente de coito previo (RR = 3.23 p = 0.00009) En cuanto al número de coitos 10 días antes de la fecha de ruptura de membranas y el intervalo de tiempo entre el último coito y la ruptura no hubo diferencia estadísticamente significativa. El antecedente de RPM en la paciente tuvo un riesgo relativo de 1.88 con un valor de p igual a 0.07. El resto de factores de riesgo no tuvieron significancia estadística. Tabla # 2.

En la Tabla # 3 y # 4 observamos los diagnósticos de interrupción del embarazo en los grupos de casos y controles respectivamente. En el grupo de casos se observa que 27.3% se interrumpieron por Corioamnionitis clínica. La causa más frecuente de interrupción en este grupo fue el inicio espontáneo de la labor en un 36.7%, mientras que en el grupo control lo fue la Insuficiencia de la Unidad Feto-Placentaria con un 70.8%.

Tabla 3. Diagnóstico de Interrupción. Casos

	Frecuencia	Porcentaje	Acum.
Corioamnionitis Clínica	6	27.3	27.3%
Inicio de labor	8	36.4	63.6%
Madurez pulmonar	4	18.2	81.8%
Perfil biofisico 6/10	2	9.1	90.9%
RCIU	1	4.5	95.5%
Sufr. fetal agudo	1	4.5	100%

Tabla 4. Diagnóstico de Interrupción. Controles

	Frecuencia	Porcentaje	Acum.
Cesárea previa	4	16.7	16.7
DPPNI	1	4.2	20.8
HTAIE	3	12.5	33.3
IUFP	9	37.5	70.8
Inicio de labor	4	16.7	87.5
Madurez pulmonar	1	4.2	91.7
Malf. fetal	2	8.3	100

Con respecto al sexo de los recién nacidos no hubo diferencia importante. Relación fem/mas. =1:1.3. Los resultados observados en nuestro estudio con respecto a las diferentes pruebas de laboratorio en la

madre como determinantes de infección están presentados en la Tabla # 5.

Tabla 5. Pruebas de Laboratorio. Casos

	Sensibilidad	Especificidad	V.P.P.	V.P.N.
Leucograma	25	81	17	87
V.E.S.	75	58	21	94
P.C.R.	50	79	20	94

En los resultados de la pruebas séricas maternas se observa que el leucograma presenta una sensibilidad y un valor predictivo positivo bajo; en cambio, valores altos de especificidad y valor predictivo negativo alto. La velocidad de eritrosedimentación se presenta con sensibilidad y valor predictivo negativo alto. La Proteína C Reactiva se presenta con una especificidad y valor predictivo negativo alto.

Tabla 6. Pruebas de Laboratorio. Casos y Controles.

	Sensibilidad	Especificidad	V.P.P.	V.P.N.
Leucograma	20	86	12	91
V.E.S.	75	57	13	96
P.C.R.	33	81	11	95

Al observar los resultados de ambos grupos en las pruebas de laboratorio, se muestra que para el leucograma y VES, son bastante similares. Para la PCR se encuentra una sensibilidad y VPP ligeramente más bajo.

Los resultados bioquímicos de líquido amniótico encontrados en los 33 casos están descritos en la tabla # 7.

Tabla 7. Variables Bioquímicas del Líquido Amniótico. Casos.

	Sensibilidad	Especificidad	V.P.P.	V.P.N.
Esterasa	50	65	18	89
Leucocitaria				
Glucosa	75	69	27	95

En la tabla anterior lo más importante de destacar es una mayor sensibilidad del nivel de la glucosa comparado con los niveles de esterasa leucocitaria en líquido amniótico. Ya al observar en la tabla #8 los resultados

en ambos grupos se observa que mejora la especificidad y valor predictivo negativo en ambos grupos, mientras que con respecto a la glucosa disminuye levemente la sensibilidad y valor predictivo positivo al incluir las pacientes no portadoras de RPM.

Tabla 8. Variables Bioquímicas del Líquido Amniótico. Casos y controles.

	Sensibilidad	Especificidad	V.P.P.	V.P.N.
Esterasa	40	80	16	93
Leucocita				
Glucosa	60	77	20	95

Los cultivos positivos en el grupo portador de RPM fueron del 17%, mientras que en el grupo control solo hubo un cultivo positivo el cual se consideró contaminación (estafilococo coagulasa negativa).

Los resultados de los frotis de líquido amniótico fueron negativos en todos los casos a pesar de los cuatro casos con cultivos positivos . En el grupo control se encontró que de 27, se obtuvieron 25 esterases leucocitarias negativas, simultáneo con el cultivo negativo y solo un caso tuvo esterasa leucocitaria positiva, con cultivo negativo. Con respecto a los niveles de glucosa, 25 de un total de 27 tuvieron glucosa mayor de 14 mg/dl con cultivo negativo.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En la Obstetricia actual existe una unificación de criterios en cuanto al manejo de la Ruptura Pretérmino de Membranas, y es el manejo conservador de la Ruptura Prematura de Membranas. El gran fin del manejo expectante de la RPM es disminuir la morbilidad y mortalidad perinatal, y nuestro departamento no es la excepción. El gran dilema de este manejo ha sido el constante riesgo de infección que yace sobre el binomio madre-feto. La corriente actual es la utilización de métodos de detección precoz de infección intrauterina, pero aún con cierta controversia.

En nuestro estudio, los grupos poblacionales incluidos han mostrado en sus diferentes variables ser

muy homogéneos. Es importante mencionar que en dos variables importantes estos grupos se dispersaron; uno fue la edad gestacional al momento de la interrupción y, consecuentemente, el peso neonatal, las cuales son justificadas por que el grupo control corresponde a un grupo de mayor edad gestacional asociada a diferente patología.

Varios autores han publicado acerca de la relación de diferentes factores de riesgo y la presencia de RPM (15 , 16). En nuestro estudio encontramos que de los factores más comunes asociados a RPM, según la literatura mundial, sólo el antecedente de coito durante el embarazo tuvo significancia estadística. El antecedente de RPM previa en la paciente, aunque no significativo estadísticamente, presentó un riesgo relativo de 1.88 con un valor de $p = 0.07$.

Las pruebas séricas realizadas en la madre, al analizarlas con el fin de determinar su valor predictivo de infección en el grupo de pacientes portadoras de RPM encontramos que el leucograma y la proteína C reactiva son más específicos que sensibles y con un alto valor predictivo negativo. Mientras que la VES presentó una sensibilidad de 75% y un valor predictivo negativo del 94%.

En las pacientes portadoras de RPM se encontró que el 17% de los cultivos fueron positivos. Mientras que en el grupo de pacientes no portadoras de RPM los cultivos fueron todos negativos a excepción de uno que se consideró contaminación. Con base a lo anterior podemos concluir que la amniocentesis con fines de estudios bacteriológicos, al ser negativos son de gran ayuda en el manejo expectante de este tipo de pacientes. En los casos de cultivo positivo es un factor determinante en la decisión de interrupción del embarazo, sobre todo si se asocia a factores clínicos.

Diferentes autores han investigado la utilidad de la esterasa leucocitaria en líquido amniótico como valor predictivo de infección intrauterina, presentando alguna controversia en cuanto a su utilidad real. (12, 17 , 18, 20,). En los anteriores estudios donde la prueba fue objeto de investigación se encontró alta sensibilidad y especificidad en la detección de la invasión microbiana a la cavidad amniótica. Gauthier y colaboradores

determinaron que esta prueba no es lo suficiente para tomar una decisión clínica basada en sus resultados (17). En nuestro estudio encontramos una sensibilidad de 50%, especificidad de 65%, una VPP de 18% y un VPN de 89%. Lo que nos hace pensar que la esterasa leucocitaria no se convierte en un arma infalible en el seguimiento y detección precoz de infección en pacientes portadoras de RPM. Al incluir ambos grupos en el análisis de esta prueba encontramos que mejora tanto su especificidad como su valor predictivo negativo, lo que nos hace concluir que tal vez haya algo de utilidad de la prueba al ser negativa, y así orientarnos a ausencia de infección.

Por otro lado al analizar los resultados obtenidos del Frotis con coloración Gram en líquido amniótico como predictor de infección intrauterina, diferentes autores han escrito sobre su utilidad. Romero (8) encontró una sensibilidad del 44.8% y una especificidad del 97.6%. En cambio Gauthier (17) observó una sensibilidad menor a la encontrada en comparación a los valores para los niveles de esterasa leucocitaria y glucosa de líquido amniótico. En nuestro estudio los hallazgos son nada halagadores para el uso de la tinción de Gram en líquido amniótico como factor predictor de infección: de un total de 5 cultivos positivos de líquido amniótico por amniocentesis en el grupo de pacientes portadoras de RPM, ningún frotis de estas pacientes fue positivo.

En la actualidad los niveles de glucosa en líquido amniótico han tenido gran auge como método predictor de infección intrauterina (10, 13, 14, 18) en pacientes portadoras de RPM. Romero (10) demostró que el nivel de glucosa por debajo de 14 mg/dl tiene una sensibilidad de 86.9% y una especificidad de 91.7% en la detección de cultivo positivo. En nuestro estudio se encontró una sensibilidad de 75% y una especificidad de 69%, un valor predictivo positivo de 27% y un valor predictivo negativo de 95%, lo que va acorde con la utilidad de la prueba según la gran mayoría de los estudios sobre los niveles de glucosa en líquido amniótico y RPM. Se recalca el alto valor predictivo negativo de la prueba.

Por lo tanto podríamos concluir con respecto al punto de las pruebas de líquido amniótico para detección precoz de infección intrauterina en pacientes portadoras

de RPM que el nivel de glucosa como prueba fue muy superior como método de predicción de infección intrauterina comparado con los niveles de esterasa leucocitaria y frotis con coloración de gram, con valores de sensibilidad y especificidad no totalmente óptimos, por lo cual no la podemos recomendar como una prueba exacta de detección precoz de infección intrauterina en aquellas pacientes portadoras de RPM.

SUMMARY

In premature rupture of membranes, infection is one of the main risks. This paper refers to amniotic fluid examination as a medium to detect early infection. Three tests are analyzed: 1) *Glucose level in amniotic fluid*; 2) *Gram smear* and 3) *Leucocyte esterase levels*.

Glucose level is the best of them but sensitivity and specificity are not good enough to recommend no one of them.

BIBLIOGRAFIA

1. Arias, F. *Premature Rupture of the Membranes. Practical Guide to High-Risk Pregnancy and Delivery. Second Edition. 1993.*
2. Romero R, Mazor M, King WY. *Infection in the Pathogenesis of Preterm Labor. Seminars in Perinatology, Vol 12 N°4 (October), 1988 pp. 262-279.*
3. Vinzileos A, Campbell W, Rodis J. *Tests of Fetal Well-Being in Premature Rupture of Membranes. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America. Vol. 19 N°2. (June) 1992. pp.281-307.*

4. Garite T, Freeman R, Linzey M. The use of Amniocentesis in Patients with Premature Rupture of Membranes. *Obstetrics & Gynecology*. Vol. 54 N°2 (August) 1979. pp. 226-230.
5. Cotton D, Lyndon H, Strassner H. Use of Amniocentesis in Preterm Gestation with Ruptured Membranes. *Obstetrics & Gynecology*. Vol. 63 N°1 January 1984. pp. 38-43.
6. Feinstein S, Vintzileos A, Lodeiro J. Amniocentesis with Premature Rupture of Membranes. *Obstetrics & Gynecology*. Vol. 68 N°2 August 1986. pp. 147-152.
7. Romero R, Quintero R, Oyarzun E. Intramniotic infection and the onset of labor in preterm rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 159 N°3 September 1988. pp. 661-666.
8. Romero R, Emamian M. The value and limitations of the Gram stain examination in the diagnosis of intramniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 159 N°1 July 1988. pp. 114-119.
9. Broekhuizen F, Gilman M. Amniocentesis for Gram Stain and Culture in Preterm Rupture of the Membranes. *Obstetrics & Gynecology*. Vol. 66 N°3. September 1985. pp. 316-321.
10. Romero R, Jiménez C, Lohda A. Amniotic fluid glucose concentration: A rapid and simple method for the detection of intramniotic infection in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 163 N°3. September 1990. pp. 968-974.
11. Asrat T, Nageotte M, Garite T. Gram stain results from amniocentesis in patients with preterm premature rupture of membranes - Comparison of maternal and fetal characteristics. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 163 N°3. September 1990. pp. 887-889.
12. Hoskins Y, Katz J. In vitro inhibition of esterase activity in amniotic fluid: Comparison with bacterial cultures. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 163 N°6 Part 1. December 1990. pp. 1944-1947.
13. Kiltz R, Shannon B. Amniotic fluid glucose concentration as a marker for Intramniotic Infection. *Obstetrics & Gynecology*. Vol. 78 N°4. October 1991. pp. 619-621.
14. Kirshon B, Rosenfeld B. Amniotic fluid glucose and intramniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 164 N°3. March 1991. pp. 818-820.
15. Asrat T, Lewis D, Garite T. Rate of recurrence of preterm premature rupture of membranes in consecutive pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 165 N°4 Part 1. October 1991. pp. 1111-1114.
16. Harger J, Hsing A. Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: A multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 163 N°1 Part 1. July 1990. pp. 130-137.
17. Gauthier D, Meyer W. Comparison of Gram stain, leukocyte esterase activity and amniotic fluid glucose concentration in predicting amniotic fluid culture results in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 167 N°4 Part 1. October 1992. pp. 1092-1095.
18. Coultrip L, Grossman J. Evaluation of rapid diagnostic test in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 167 N°5. November 1992. pp. 1231-1242.
19. Gibbs R, Duff P. Progress in pathogenesis and management of clinical intramniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 164 N°5 Part 1. May 1991. pp. 1317-1326.
20. Hoskins Y, Katz J. Esterase activity in second - and third trimester amniotic fluid: An indicator of chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 161 N°6 Part 1. December 1989. pp. 1543-1545.