

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POST GRADO  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA NÚMERO 4  
“LUIS CASTELAZO AYALA”  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

***UTILIDAD DE LA GONADOTROPINA CORIONICA INTACTA,  
FRACCIÓN  $\beta$  Y PROLACTINA  
EN LAVADO CERVICO VAGINAL PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

***ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA***

**P R E S E N T A :**

**DRA. ZARELA LIZBETH CHINOLLA ARELLANO**

**ASESORES**

**DR. ALFEDRO LEAÑOS MIRANDA**

**INVESTIGADOR TITULA A. UNIDAD INVESTIGACION MÉDICA EN  
MEDICINA REPRODUCTIVA**

**DRA. OLIVIA SÁNCHEZ RODRIGUEZ**

**MÉDICO SUB-ESPECIALISTA MEDICINA MATERNO FETAL**

**DR. SEBASTIAN CARRANZA LIRA**

**DIRECTOR DE EDUCACION E INVESTIGACIÓN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

---

---

---

**DR. GILBERTO TENA ALAVEZ**

Director General de la Unidad Médica de Alta Especialidad en  
Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”

---

**DR. SEBASTIAN CARRANZA LIRA**

Director de Educación e Investigación en Salud  
UMAE en Ginecología y Obstetricia No.4 “Luis Castelazo Ayala”

---

**DR. ALFREDO LEAÑOS MIRANDA**

Investigador Titular A. Unidad de Investigación Médica  
en Medicina Reproductiva. UMAE  
Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”

---

**DRA. OLIVIA SANCHEZ RODRÍGUEZ**

Médico Especialista en Medicina Perinatal  
Adscrita al Servicio de Perinatología UMAE  
Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”

## **DEDICATORIAS:**

***Sería difícil realizar algo sin motivación, por lo que el solo pensar que es lo que me motiva, evoco momentos felices de mi vida. Por lo que este trabajo está dedicado a la gente que me ha participado en grandes momentos en mi vida, que han promovido la pasión de disfrutar esta vida.***

***A Doña Silvia mi madre, por ser siempre el pilar de nuestro hogar, con su peculiar metodología y su fuerza para seguir adelante.***

***A Bere mi Hermana, mi gran amiga y mi gran ejemplo de vida.***

***A Almendrita mi Hermanita, nuestro mejor complemento familiar, la genialidad de nuestro hogar.***

***Mafalda, el mío fue de 360 grados, el huracán que me ha mostrado que todo es posible. buc***

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios, por no te equivocas.*

*A la Gineco 4 nuestro segundo hogar, somos gracias a este hospital un elemento más en beneficio de las pacientes.*

*A Doña Manuela y Don Emilio, por la adopción y el gran apoyo que he recibido. Eternamente agradecida.*

*Al Dr. Alfredo Leños Miranda por darnos la oportunidad de convivir con usted y compartir sus conocimientos. A la Dra. Guadalupe Cárdenas por su orientación y buen humor.*

*A mis compañeros y amigos, que compartieron esta gran viaje llamado Residencia, Janeth, Lorena, Juanito, y Erika. Sin olvidar a quienes te hacen mejor médico y mejor persona mis compañeros de guardia.*

## ÍNDICE

I. ABREVIATURAS.....	6
II. RESUMEN .....	7
III. ANTECEDENTES.....	8
A. Ruptura prematura de membranas.....	8
B. Pruebas diagnósticas.....	11
i. Historia clínica.....	12
ii. Exploración física.....	12
iii. Métodos.....	13
1. Citológicos.....	13
2. Bioquímicos.....	15
C. Hormona Gonadotrofina coriónica humana.....	16
D. Hormona gonadotropina coriónica fracción beta.....	16
E. Prolactina.....	17
IV. JUSTIFICACION.....	22
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	23
VI. HIPOTESIS.....	24
VII. OBJETIVO.....	24
A. Objetivo General.....	24
B. Objetivos Específicos.....	24
VIII. MATERIAL Y METODOS.....	25
A. Lugar de realización del estudio.....	25

B. Diseño experimental.....	25
C. Grupos de estudio.....	26
D. Obtención muestras.....	27
E. Variables en estudio y escala operacional.....	28
F. Definición operacional de las variables.....	28
G. Determinación de $\beta$ -HGC.....	29
H. Determinación de HGC.....	30
I. Determinación de Prolactina.....	31
J. Análisis estadístico.....	32
IX. RESULTADOS.....	33
X. DISCUSIÓN.....	42
XI. CONCLUSIONES.....	45
XII. ANEXOS.....	47
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	48

## RESUMEN

### UTILIDAD DIAGNOSTICA DE LA GONADOTROFINA CORIONICA INTACTA, FRACCIÓN $\beta$ DE LA GONADOTROFINA CORIONICA Y DE LA PROLACTINA EN LAVADO CERVICO VAGINAL PARA LA RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS

**OBJETIVOS:** Determinar la utilidad clínica de la concentración de gonadotrofina coriónica intacta (HCG), fracción  $\beta$  ( $\beta$ -HCG) y prolactina (PRL) en el lavado cervico-vaginal para el diagnóstico de la ruptura prematura de membranas (RPM).

**MATERIAL Y METODOS:** Se estudiaron un total de 190 embarazadas con edad gestacional mayor a 24 SDG, divididas en tres grupos: 1. Control (n=127) sin RPM, 2. Sospecha de RPM (n=36) y 3. Con RPM (n=27). Se les realizó lavado cervico-vaginal para determinar en este la HCG,  $\beta$ -HCG y PRL por ELISA.

**RESULTADOS:** De entre las 36 pacientes con sospecha de RPM, en 4 (11.1%) de ellas se confirmó el diagnóstico de RPM. Del total de pacientes estudiadas, 31/190 (16.3%) tuvieron un diagnóstico final de RPM. Las pacientes con RPM tuvieron una edad gestacional al parto, tiempo de latencia en días al parto y peso de los recién nacidos significativamente menor que en aquellas que no presentaron RPM ( $p \leq 0.001$ ). Las pacientes con RPM tuvieron concentraciones significativamente más elevadas de PRL en el lavado cervico-vaginal que las que no cursaron con RPM 39,885.0 pg/ml [48.6–572,745 pg/ml] vs. 0.0 pg/ml [0–317.0 pg/ml],  $p < 0.001$ ). Similarmente, la concentración de HCG fue mayor en las pacientes con RPM que las que no cursaron con RPM (8.36 ng/ml [0 – 333.87 ng/ml] vs. 0.53 ng/ml [0 – 78.17 ng/ml],  $p = 0.001$ ). En contraste, la concentración de  $\beta$ HCG fue semejante entre las pacientes con y sin RPM 2.55 ng/ml [0–92.07 ng/ml] vs. 3.38 ng/ml [0–35.62],  $p = 0.836$ ).

El mejor punto de corte de la PRL cervico-vaginal ( $>337.5$  pg/ml) tuvo una área bajo la curva de 0.997 (IC 95% [0.977 - 100],  $p < 0.001$ ) y una sensibilidad de 96.7 (IC 95% [83.2 – 99.5]), especificidad de 100% (IC 95% [97.7 -100]). Valores predictivos positivos y negativos de 100 y 99.4%, respectivamente. En cambio, el rendimiento diagnóstico de la HCG y  $\beta$ -HCG tuvieron pobre utilidad diagnóstica.

**CONCLUSIONES:** La utilidad de la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG en el lavado cervico-vaginal para el diagnóstico de RPM es pobre. En contraste, la PRL tiene un alto rendimiento diagnóstico con una alta sensibilidad y especificidad en la RPM. La PRL en el lavado cervico-vaginal usando una prueba ultrasensible para cuantificar PRL es un método alternativo y adecuado para el diagnóstico de la RPM, especialmente en aquellos casos no concluyentes de RPM.

**PALABRAS CLAVE:** Ruptura de membranas, HGC, HGC- $\beta$ , Prolactina.



## **ANTECEDENTES**

### **Definición:**

La ruptura prematura de membranas (RPM) es definida como la pérdida de la continuidad de las membranas corioamnióticas que ocurre por al menos una hora previo al trabajo de parto y que puede manifestarse con la salida de líquido amniótico trasvaginal. Cuando esta se produce antes de la semana 37 de gestación, se conoce como ruptura prematura de membranas pretérmino (RPMp), posterior a las 37 semanas de gestación (SDG) se conoce como RPM término. Ocasiona aproximadamente un 33% de todos los nacimientos pretérmino (1). La armonía entre las membranas, el líquido amniótico y el feto, son fundamentales para una gestación adecuada, por lo que la disrupción de las membranas repercute de manera importante.

### **Fisiología:**

*Líquido amniótico:* Este representa un pilar dentro de la homeostasis del embarazo, ya que tiene múltiples funciones, como: soporte mecánico para el desarrollo músculo esquelético, sistema pulmonar, homeostasis térmica, mantenimiento de la esterilidad y desarrollo integral fetal, etc. Además amortigua impulsos externos que pudieran generarse por un trauma a nivel abdominal (2). De los factores que contribuyen a la producción y remoción del líquido están: la producción urinaria del feto que puede llegar a contribuir desde las 22 ó 23 SDG (a partir de la queratinización) de 600 a 1200ml por día y las secreciones traqueales de 60 a 100ml por día.

La placenta (intramembranosa) genera un intercambio de líquido de 400 ml por día en promedio. (3) Las membranas corioamnióticas se sabe que generan un porcentaje de la producción del líquido amniótico, sin embargo, no se ha establecido con exactitud, algunos autores reportan sólo 10ml por día en productos de término. Además presenta propiedades anti-bacteriales principalmente a través de enzimas proteolíticas como proteasas. (4)

*Membranas amnióticas:* Se dividen en corion y amnios, que son inherentes entre ellas, se componen de diferentes tipos de células: células epiteliales, mesenquimatosas, células trofoblásticas y una matriz de colágena. No contienen vasos, los nutrientes son suministrados por el líquido amniótico. El amnios específicamente se compone de cinco capas: epitelio, membrana basal, capa compacta, capa de fibroblastos y capa intermedia ó esponjosa. El corion tiene 3 capas: capa reticular, membrana basal, y trofoblasto. Todas compuestas principalmente por colágena (Tipo II, III, IV, y VIII principalmente), fibronectina, proteoglucanos y laminilla (5)

### **Factores de riesgo:**

La RPM está relacionada con procesos bioquímicos, incluyendo la disrupción de la colágena de la matriz extracelular del amnios y corion, además de muerte celular programada (apoptosis), de las membranas fetales. (6) Se ha propuesto que las membranas fetales junto con la decidua responde a varios estímulos, incluyendo lesiones e infecciones del tracto reproductivo, producido por mediadores como prostaglandinas, citocinas y hormonas. (7) Otros factores de riesgo asociados son: el tabaquismo y las deficiencias nutricionales,

principalmente de proteínas, hierro, zinc y ácido ascórbico. Los factores de riesgo más relevantes para presentar RPM es el antecedente de RPM en embarazo anterior, con un riesgo 13.6 para presentar RPM en el siguiente embarazo (8).

**Fisiopatología:**

*Factores mecánicos:* Algunos antecedentes que se deben investigar en una paciente con sospecha de RPM son la historia de procedimientos invasivos como el cerclaje cervical, donde el material de sutura y la manipulación quirúrgica podrían actuar como cuerpo extraño favoreciendo el aumento de las prostaglandinas, el uso de dispositivo intrauterino, el mecanismo de lesión es la presencia de un cuerpo extraño en la cavidad uterina. (9,10) La sobre distensión mecánica uterina y de las membranas amnióticas ya sea por embarazo múltiple, polihidramnios, macrosomía, entre otros, se ha establecido como un factor predisponente para la RPM. (11)

*Factores bioquímicos:* Un mecanismo de sumo interés descrito es la presencia de sangrado vaginal en cualquier momento de la gestación, ya que representa un mecanismo importante dentro de la fisiopatología de la RPM, el cual podría generar irritación local y subsecuentemente aumento de prostaglandinas por la presencia de sangre principalmente intrauterina.(12)

*Factores infecciosos:* Está demostrado que las infecciones a cualquier nivel, pero principalmente las infecciones bacterianas a nivel cervico-vaginal y en menor grado las urinarias constituyen un riesgo mayor en la fisiopatología de la

RPM. Dentro de los agentes patogénicos involucrados en la RPM se encuentran la *Trichomona vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseriae gonorrhoea* y el estreptococo del grupo B. French y cols. reportaron que el sangrado transvaginal, la vaginosis y las infecciones de vías urinarias se asocian a RPM (13)

**Diagnóstico:**

El diagnóstico de RPM requiere una cuidadosa historia clínica, exploración física y la selección de algunas pruebas de laboratorio. Ante cualquier paciente que presente salida de líquido transvaginal, una valoración integral es fundamental para el diagnóstico certero de RPM (Figura 1). (10,12)

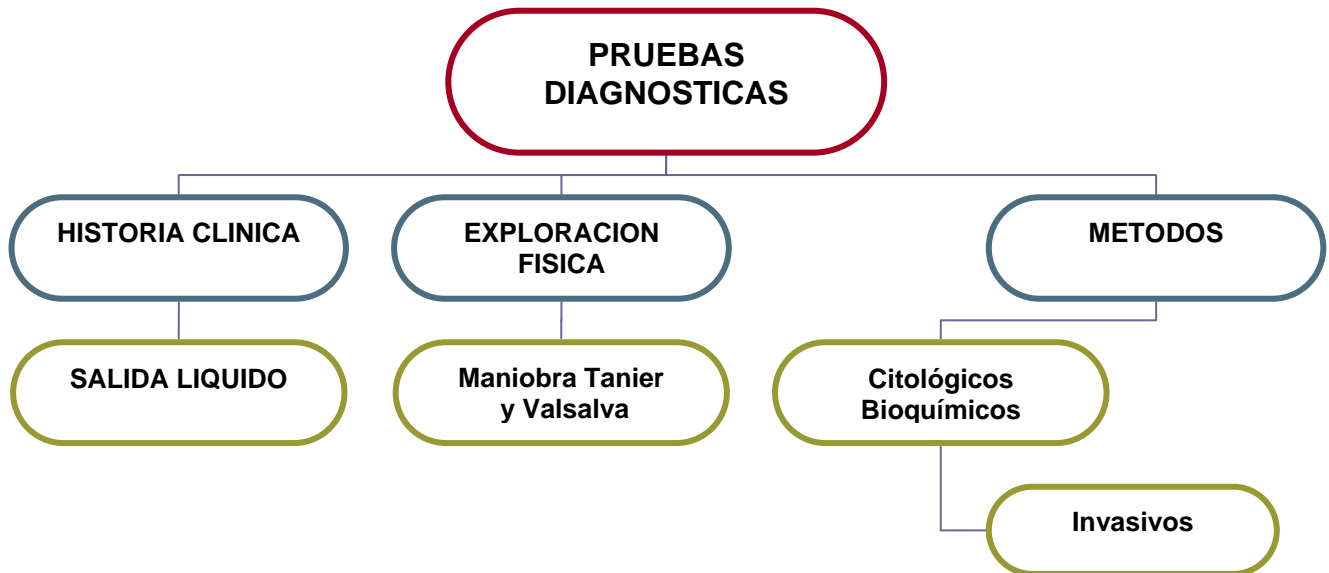


Figura 1. Manejo integral para el diagnóstico de RPM.

---

## PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

### HISTORIA CLÍNICA

**Antecedente de salida de líquido claro tras-vaginal descrito por la paciente.** Una cuidadosa historia clínica tiene una sensibilidad del 90%. La salida de líquido trasvaginal puede ser referida como abundante o en moderada cantidad, continuo o intermitente, o la sensación de humedad constante en el periné sin mojar francamente la ropa interior e incluso puede acompañarse de “escurrimiento” hacia las piernas. No obstante, la salida de líquido trasvaginal debe diferenciarse de otras entidades. Conforme avanza el embarazo, la incontinencia urinaria de urgencia se vuelve más común y puede confundirse con signos de RPM. Otras entidades donde se presenta salida de secreción vaginal, como la hidrorrea (secreción vaginal excesiva) que se presenta principalmente en la primera mitad del embarazo (su ocurrencia es poco frecuente), la leucorrea, es una secreción vaginal patológica, habitualmente se describe con o sin olor fétido, además de coloración amarillenta, verdosa o blanquecina, según la etiología (debido principalmente a infecciones bacterianas o micóticas). Finalmente, cuando se presenta actividad uterina, las modificaciones cervicales pueden generar expulsión del tapón mucoso, que puede llegar a ser confundido por la embarazada, como salida de líquido. (14,15)

### EXPLORACIÓN FÍSICA

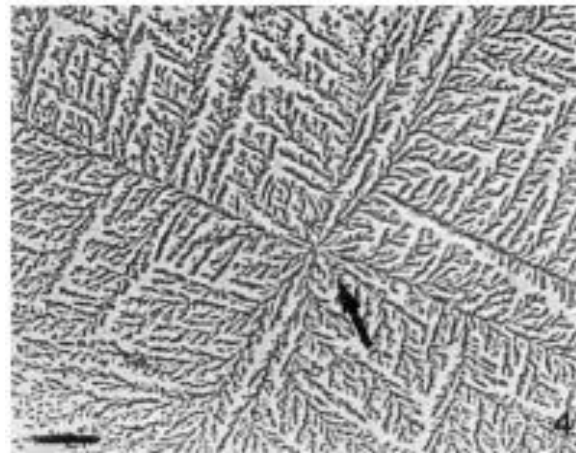
**Maniobra de Tarnier:** Consiste en realiza un tacto vaginal, posteriormente se rechaza la presentación, se empuja el fondo uterino con la finalidad de observar si existe salida de líquido trasvaginal.

**Maniobra de Valsalva:** Es un aumento de la presión intraabdominal de manera voluntaria a través del pujo para observar si existe salida de líquido a través del cérvix. Se coloca a la paciente en posición ginecológica y se realiza exploración con espejo vaginal, solicitando a la paciente que puje o tosa. (16)

## MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE LABORATORIO

### ***Marcadores citológicos:***

***Cristalografía:*** Sus antecedentes se remontan a 1946, cuando Papanicolau descubrió que el moco cervical extendido en vidrio y seco al aire producía un patrón similar a la hoja de helecho, el fenómeno fue llamado formación de hoja de helecho, el cual es secundario a la cristalización de sales. (15) Este patrón se observa en el líquido amniótico, así como también en otros líquidos corporales, incluyendo el folicular y el



cefalorraquídeo. Más tarde se identificó en todos los trimestres del embarazo, sin embargo la arborización no se puede encontrar de manera consistente previo a la semana 12 de gestación. (16) Diversos estudios confirmaron estos hallazgos y mostraron que esta prueba en el diagnóstico de RPM tenía una sensibilidad del 96% y una especificidad de 96%, un valor predictivo positivo del 96% al 98% y un valorar predictivo negativo del 90%.

Sin embargo, la toma de moco cervical en la prueba de secreciones vaginales puede presentar falsos positivos hasta en un 30% de las tomas y su utilidad diagnóstica puede modificarse por la presencia de infección, orina ó semen. (17)

*Prueba de lanugo:* Esta prueba fue descrita en 1929 por Philip y William, el cual consiste en la búsqueda de células, vernix caseosa y/o pelo fetal en examen citológico.

*Prueba naranja de acridina:* La prueba consiste en teñir las secreciones vaginales con naranja de acridina al 0.025% por 3 segundos, etil alcohol al 2% por 3 segundos y posteriormente con un lavado con solución salina por 4 segundos. Después de secarse la preparación al aire se observa al microscopio con luz ultravioleta. Las células escamosas se tiñen de color verde. Ambos estudios (prueba de lanugo y naranja de acridina) tienen una sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos del 99%, 92%, 97% y 96%; respectivamente. Sin embargo, las células vaginales, pueden llegar a no presentar desarrollo nuclear y del citoplasma, por lo que la diferenciación entre las células fetales y estas es complicado; además de que ambas técnicas consumen tiempo, son laboriosas y se requiere de una gran experiencia para su lectura, por lo que han sido abandonadas actualmente. (18)

### ***Marcadores Bioquímicos***

*pH*. Descrito inicialmente en 1933 por Temesvary, basado en el pH ácido que en condiciones fisiológicas presenta la vagina de 4.5 a 5.5 y su diferenciación cuando existe RPM, donde el pH se torna alcalino, oscilando entre 7 y 7.5 en presencia de líquido amniótico. Técnicamente se emplea una tira reactiva donde el color inicialmente naranja vira a verde-azul de acuerdo al pH.(19) Se han utilizado diferentes materiales para medir la concentración de iones hidrógeno, entre los cuales están: Papel *Litmus* (uno de los test colorimétricos para medir el pH de la vagina, pero presenta un margen de error de hasta el 35%), *Azul Bromtinol* (Temesvary usó un filtro de papel con esta sustancia al 0.2%) y *Nitrazina* (Papel indicador impregnado con sodio dinitrofenillazonaptol disulfonato, inicialmente usado para medir pH en orina, posteriormente se usó para la detección de RPM, descrito por Baptista en 1938. Este material se ha difundido hasta la actualidad y ahora como apoyo diagnóstico. Es importante que la tira empleada no esté caducada, se mantenga almacenada adecuadamente sin exponerse al medio ambiente hasta su uso y esperar el tiempo estipulado para su lectura. Todo esto con el fin de disminuir el porcentaje de falsos positivos y negativos, ya que su sensibilidad y especificidad como prueba única es baja, reportándose 56% y 16% respectivamente, sin embargo su utilidad mayor ha sido cuando se evalúa en forma conjunta con la cristalografía, incrementando estos valores. (20)



*Creatinina.* Se ha propuesto la medición de creatinina en lavado vaginal debido a que la orina fetal es uno de los componentes más importantes en el líquido amniótico. Gurbuz, reportó una sensibilidad y especificidad del 100% a un punto de corte entre 0.55 – 0.70 mg/dl (21). Sin embargo, refiere que no es aplicable la prueba para condiciones, donde este afectada la orina fetal. Por lo que no se podría aplicar la prueba en fetos que presenten algún tipo de malformación renal y que presenten distrés fetal, insuficiencia placentaria, corioamnionitis ó cualquier entidad que genere sufrimiento fetal, ya que dentro de los mecanismos de defensa, es a través de redistribución de la circulación fetal, que genera aumento de flujo hacia suprarrenales, cerebro y corazón fetal. Generando a largo ó corto plazo hipo perfusión renal, subsecuentemente disminución de líquido amniótico (22).

***Otros marcadores (pruebas bioquímicas):***

*Hormona Gonadotropina Coriónica Fracción  $\beta$  (HGC- $\beta$ ):* Es una hormona glicoproteica que pertenece a la familia de las hormonas glicoproteicas (Gonadotropina, Luteinizante y Folículo estimulante). Producida principalmente por el sincitiotrofoblasto, además de pequeñas cantidades a nivel pituitario (Birken). Se compone de dos subunidades: alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ), la primera es idéntica en estructura en todas las hormonas glicoproteicas. Sin embargo la subunidad  $\beta$  es exclusiva de la HGC y conforme el embarazo progresa, los niveles de  $\beta$ - HGC, aumenta considerablemente hasta aproximadamente 54,000 mIU/ml a las 18–20 semanas de gestación, donde el pico máximo llega a ser de 12,000 mIU/ml durante el tercer trimestre. (23)

La  $\beta$ -HGC está presente en el líquido amniótico así como también en la sangre materna y orina a concentraciones que van desde 2,000 a 70,000 mIU/ml, según la edad gestacional. Además es secretada por las glándulas cervicales, esta presente en ciertos niveles en los fluidos vaginales. (24). La fracción beta se considera específica para medir gonadotropina, ya que la fracción alfa está presente en las demás hormonas, aunque presentan similitud estructural. (25) Existen algunas publicaciones donde se relaciona la  $\beta$ -HGC de secreciones vaginales con RPM. Reportan que el valor diagnóstico para el segundo y tercer trimestre fue considerado satisfactorio, por estar todos los valores estadísticos arriba de 80%. El estudio de Young-Han, evaluó las concentraciones de  $\beta$ -HGC en el diagnóstico de RPM, reportando una sensibilidad y especificidad de 94.7% y 91.3% (26). Otro estudio, reportó que la concentración de  $\beta$ -HGC en fluidos vaginales en mujeres embarazadas es de 35 mIU/ml y en mujeres embarazadas con ruptura de membranas es de 478 mIU/ml. Otros estudios documentaron que los niveles de  $\beta$ -HGC en las secreciones vaginales en mujeres embarazadas son bajos en promedio de (10.47 mIU/ml), sin embargo, en mujeres con diagnóstico de ruptura de membranas presentaron un incremento de la hormona a 95.49 mIU/ml en promedio (27,28).

***Prolactina (PRL):*** Es la hormona con más funciones conocidas y estudiadas hasta el momento, juega un rol con más de 300 funciones biológicas en el organismo, algunas bien determinadas como: equilibrio de líquidos y

electrolitos, inmuno-regulador, efectos conductuales, metabolismo, así como embarazo y lactancia. (29)

*Prolactina y la ruptura de membranas:* Se ha demostrado que la concentración sérica de las pacientes que presentan ruptura de membranas tienen una disminución de prolactina, sin embargo en estas mismas pacientes se determinó una elevación de la concentración de prolactina en líquido amniótico. Shaarawy reportó el aumento significativo de la cuantificación de la prolactina en lavado vaginal en pacientes con ruptura de membranas, llegando a determinar una cantidad de 616.59 microIU/ml vs. 10 microIU/ml en el grupo control, infiriendo su utilidad de la hormona para el diagnóstico de RPM a través de secreciones vaginales. (30)

---

#### APOYO DIAGNOSTICO

**Ultrasonido:** Uno de los métodos no invasivos que han servido sólo como apoyo diagnóstico es la medición cualitativa del líquido amniótico por ultrasonido, se ha propuesto varios métodos para la medición del mismo y se ha considerado el “Estándar de oro” a través del índice de líquido amniótico

(ILA), donde el concepto de oligohidramnios en productos de término es cuando reporta 5 cm ó menos de ILA (1ra percentila). Se han establecido otros parámetros según la edad gestacional, basado en percentilas. Tomando en cuenta que Moore y Cayle pioneros en reportes de estimación del líquido amniótico, reportaron valor diagnóstico del 88% para el reporte de oligohidramnios; es decir, que la cantidad reportada como oligohidramnios

puede ser hasta un 20% más de la cifra determinada. (31) Sin embargo, un meta análisis determinó un punto de corte en cantidad de líquido definiendo como oligohidramnios hasta 318ml.

**Amnioinfusión:** Se ha utilizado como una alternativa para el diagnóstico, los colorantes como el índigo carmín y azul de Evans, los cuales son los más usados. Sin embargo es de uso limitado por su morbilidad (lesiones en la piel, ocasionalmente lesiones oculares, infección intraamniótica, etc. (32)

## **TRATAMIENTO**

El manejo está basado principalmente en la edad gestacional, determinada por FUM, ultrasonido y datos clínicos. Existen dos rutas para el manejo en cuanto se establece el diagnóstico de RPM: en caso de que el embarazo sea de término, embarazos pretérmino cerca del término (mayor a 34 SDG) ó con madurez fetal corroborada, se interrumpe el embarazo. La vía de interrupción es determinada por los factores clínicos asociados. (33)

*Manejo conservador:*

El grupo de pacientes que presenta RPM pretérmino lejos del término (menor a 33.6 SDG), se deberá evaluar las condiciones para poder dar el beneficio de un esquema de madurez fetal con corticoides. Los esquemas principales son: Betametasona 12mg intramuscular cada 24 horas por dos dosis, Dexametasona 6mg intramuscular cada 12 horas por 4 dosis (utilizado en nuestro hospital). Este manejo se denomina Manejo Conservador, con la única finalidad de mejorar el pronóstico fetal a través del esquema de maduración, siempre y cuando no exceda los riesgos sobre el beneficio materno-fetal.

El beneficio radica en disminuir principalmente el distres respiratorio, hemorragia intraventricular, enterocolitis necrotizante, entre otras. (34)

Las indicaciones para un Manejo Conservador en RPM son: Bienestar materno y fetal, que incluyen no datos de infección como taquicardia materna y/o fetal, fiebre, hipersensibilidad uterina, líquido amniótico fétido, leucocitosis, proteína C reactiva elevada, interleucina 6, etc. Así como cantidad de líquido medido por USG (pool mayor de 2cm), y que las condiciones hospitalarias sean las adecuadas, para el monitoreo, vigilancia y resolución del embarazo se lleve adecuadamente. (35)

*Antibiótico:* Todas las pacientes con RPM, debido a su gran asociación con procesos infecciosos se manejan esquemas de antibiótico de amplio espectro o esquemas combinados, por ejemplo en nuestro hospital se utiliza la Clindamicina y Ampicilina. (36)

El diagnóstico de RPM temprano y oportuno es de suma importancia debido al riesgo de complicaciones bien descritas, tales como: *Disminución de la cantidad de líquido (Oligohidramnios):* El cual es un signo de compromiso fetal, asociado con alta morbilidad y mortalidad. *Infecciones (corioamnionitis y neumonía fetal),* que pueden progresar hasta bacteremia y sepsis fetal ó materna; habitualmente generado por infección por vía ascendente, desde el cérvix o la vagina, diseminación hematógica a través de la placenta, vía retrógrada desde el peritoneo por las trompas, introducción accidental por procedimientos quirúrgicos (amniocentesis, amnioinfusión) etc. Se ha mencionado que los gérmenes encontrados en el líquido amniótico son los mismos que se encuentran en el tracto vaginal, la corioamnionitis histológica es más frecuente

en el sitio de rotura que por lo general está vecino al cuello, en el embarazo gemelar este hallazgo histológico se ve sólo en el primer feto habitualmente. O en el caso de que la ruptura sea en un embarazo pretérmino se agregan otros factores adversos que genera el interrumpir el embarazo sin la madurez fetal adecuada, presentando complicaciones fetales como: síndrome de distrés respiratorio, enterocolitis necrotizante, hemorragia intraventricular, sepsis, muerte perinatal, etc. (9, 11, 36)

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las pruebas tradicionales para el diagnóstico de RPM con las que contamos hoy en día (historia clínica, cristalografía, prueba de la nitrazina) ofrecen valores buenos de sensibilidad y especificidad (86-96%) y excelentes valores predictivos (88-99%); en forma individual y conjunta; sin embargo, una de sus limitaciones importantes ha sido el incremento de falsos positivos al realizarse en pacientes con cervicovaginitis, presencia de sangre ó semen en vagina, ó bien el uso de algún antiséptico vaginal. Por otra parte los falsos negativos aumentan si el tiempo entre el diagnóstico y el tratamiento adecuado, subsecuentemente aumenta la morbilidad y mortalidad perinatal.

Hoy en día contamos con nuevos parámetros bioquímicos que ofrece como ventaja, con respecto a las pruebas convencionales disminuir el porcentaje de falsos positivos y negativos con valores aceptables de sensibilidad, especificidad y predictivos en aquellas pacientes con diagnósticos dudosos por presencia de semen, sangrado, cervicovaginitis concomitantes, etc.

## JUSTIFICACIÓN

Uno de los retos más importantes en la actualidad es el subgrupo de pacientes con RPM donde el diagnóstico es difícil de establecer, donde se tiene una historia previa de pérdidas tras vaginal, pero que las pruebas convencionales se reportan falsamente negativas. Las causas más frecuentes son el tiempo prolongado entre el evento (pérdida tras vaginal) y la realización del estudio, la presencia de sangrado, infecciones vaginales y aplicación de tratamientos locales. Esto genera consecuencias graves debido principalmente al retraso del diagnóstico como son la corioamnioitis y sus secuelas; entre ellas deciduitis y bacteremia en la madre y en el producto neumonía y sepsis neonatal.

Es por ello que en la actualidad diversos autores han estudiado ciertas pruebas diagnósticas, dentro de las cuales se encuentran, parámetros bioquímicos, como son: la diamino oxidasa, factor insulínico del crecimiento, fibronectina fetal, alfa feto proteína, etc. De los cuales han obtenido resultados con valores pronósticos pobres sobre la utilidad para el diagnóstico de RPM. (25) Dentro de los parámetros estudiados, están los parámetros bioquímicos, principalmente la determinación de hormonas, son los que han generado un gran campo de investigación, dentro de las cuales se encuentran la hormona gonadotropina coriónica humana fracción beta (HGC  $-\beta$ ), Hormona gonadotropina coriónica (HGC) y la prolactina; que ha sido cuantificadas en secreciones vaginales como una herramienta más en el diagnóstico de RPM.



Ya que están relacionadas con el aumento sérico durante todo el embarazo y específicamente en líquido amniótico presentan una mayor cantidad de las hormonas. La utilidad de estas pruebas radica en la presencia de estas hormonas de manera mínima en secreciones vaginales y su alta concentración en el líquido amniótico.

## **HIPÓTESIS**

La cuantificación de HGC- $\beta$ , HGC y PRL en lavado cervico-vaginal tiene una adecuada utilidad clínica en el diagnóstico de RPM.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Determinar el valor diagnóstico de la Hormona Gonadotropina Coriónica fracción  $\beta$  ( $\beta$ -HGC), Hormona Gonadotropina Coriónica (HGC) y Prolactina (PRL) en el diagnóstico de la RPM.

### **Objetivos específicos**

Determinar el valor diagnóstico de la fracción beta-HCG, HCG y PRL en el lavado cervico-vaginal en la RPM a través de su sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Lugar del estudio**

Este estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Ginecología y Obstetricia 4 “Luis Castelazo Ayala”, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

### **Diseño del estudio**

- Observacional
- Comparativo
- Transversal
- Prospectivo

Evaluación de una prueba diagnóstica

### **Población de estudio:**

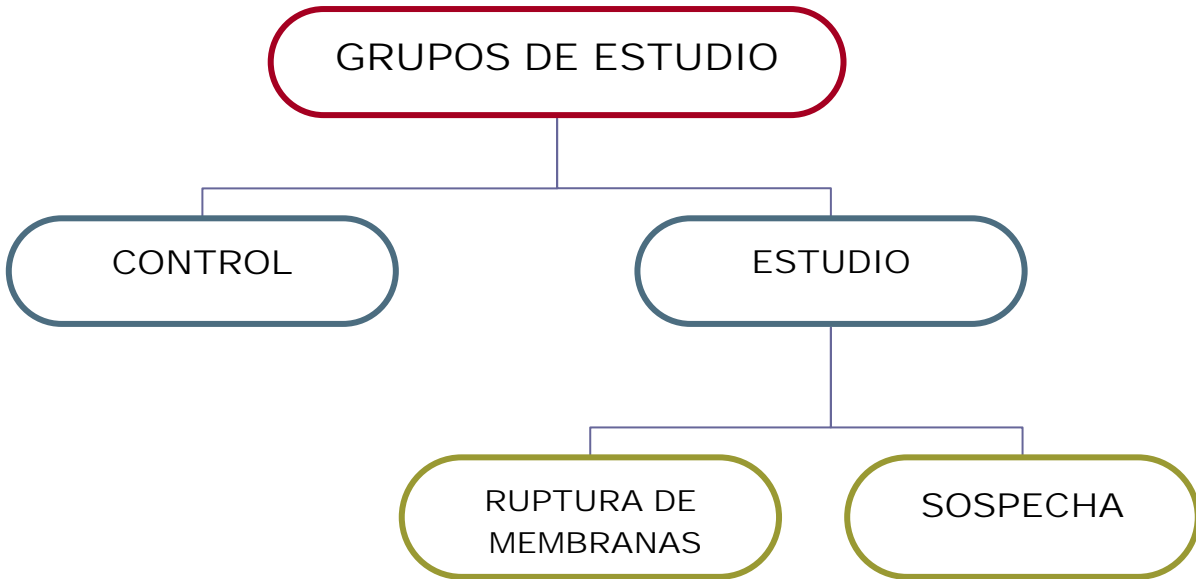
Se seleccionaron pacientes que cursaban con embarazo mayor a las 24 SDG por FUM que acudieron a este hospital para atención médica a través del servicio de urgencias. Para fines del estudio, las pacientes fueron divididas en tres grupos: un grupo control y un grupo de estudio (dividido en dos).

**Grupo control:** En este grupo se incluyeron pacientes embarazadas con edad gestacional mayor a las 24 SDG por FUM que no presentaran sospecha ó RPM y sin trabajo de parto que aceptarán participar en el estudio.

**Grupo Estudio:** Se incluyeron todas las pacientes con embarazo mayor a las 24 SDG que acudieran al servicio de urgencias por referir salida de líquido transvaginal. Se subdividieron en dos grupos de estudio (Figura 2).

**Sospecha:** Aquellas pacientes en que al examen no se corroboró salida de líquido amniótico a través del cervix o que presentaron pruebas de ruptura de membranas convencionales “no valorables” por la presencia de cervicitis, semen, sangrado, etc.

**Ruptura de Membranas:** Pacientes con salida franca de líquido trasvaginal con ó sin pruebas convencionales positivas.



**TABLA 2**

*Material y Métodos*

---

**Procedimiento para la obtención de la muestra**

Todas las pacientes que ingresaron al servicio de urgencias fueron captadas durante su estancia en la unidad toco quirúrgica ó en hospitalización. Previa explicación del procedimiento a la paciente, en posición ginecológica, colocando un espejo vaginal hasta observar las características de la vagina, y cérvix. Posteriormente se le pidió toser a la paciente (maniobra de Valsalva) y se determinó si existía salida de líquido a través del cérvix. Con un hisopo se tomó del fondo de saco posterior una muestra de secreción vaginal para colocar en porta objetos (cristalografía) para su lectura posterior. Un segundo hisopo en fondo de saco para colocar secreción vaginal en la tira reactiva correspondiente para determinar el pH (*prueba de pH*), con lectura posterior a un minuto.

Finalmente, se realizó lavado cervico-vaginal. Con una jeringa previamente preparada con tres mililitros de solución salina se irrigo el cervix y se recuperó el líquido (lavado cervico-vaginal) con la misma jeringa. La muestra se transfirió a un tubo de ensayo conteniendo azida y albúmina sérica bovina a una concentración final de 0.1%, posteriormente la muestra fue centrifugada a 3000 rpm por 15 minutos y el sobrenadante fue alicuotado y almacenado a -30 C hasta la determinación hormonal por ELISA.

---

### *Material y Métodos*

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES**

##### **Ruptura prematura de membranas (RPM)–ESTANDAR DE ORO.**

Se diagnóstico RPM, cuando en embarazos mayores de 24 SDG, existió salida franca de líquido amniótico a través del cervix en combinación o no con la positividad a nitrazina y/o cristalografía. En aquellas pacientes en que no fue evidente la salida de líquido amniótico o no fueron valorables las pruebas convencionales (nitrazina y/o cristalografía) en su primera evaluación, pero que posteriormente se confirmo RPM por clínica, pruebas convencionales o infección (grupo de sospecha) también fueron consideradas con el diagnóstico final de RPM (estándar de oro).

## **CRISTALOGRAFIA.**

La laminilla se observó al microscopio con un lente de 40X en todos los campos para determinar la presencia de forma de helechos. En caso de observarlos se calificó la prueba como positiva.

## **PRUEBA DE NITRAZINA.**

La tira reactiva posterior a la colocación de la secreción vaginal se realizó la comparación del viraje del color posterior a un minuto. Utilizando la escala estándar ya determinada por el fabricante del producto. En caso de la presencia de color verde ó azul, se determinó como positiva la prueba.

*Material y Métodos*

---

## **HORMONA GONADOTROFINA CORIONICA-FRACCION $\beta$**

La cuantificación de HCG fracción beta en el lavado cervico-vaginal se realizó mediante una prueba de ELISA. Brevemente, las placas de ELISA de 96 pozos (Maxi-Sorp, NUNC) fueron sensibilizadas con 100  $\mu$ l de una concentración de 8  $\mu$ g/ml de anticuerpos monoclonal anti-fracción  $\beta$ -HCG (Fitzgerald Industries, USA) con 0.2% azida de sodio en buffer de carbonatos–bicarbonatos pH 9.5 por 2 horas a 37°C. Posteriormente se lavó la placa en 3 ocasiones con PBS/Tween 20 0.05% y la placa fue bloqueada con 300  $\mu$ l de PBS/Tween 20 0.1%/5% de leche descremada a 37°C durante una hora. Las placas se lavaron 3 veces con PBS/Tween 20 0.05%. La fracción  $\beta$ -HCG (NHPP, UCLA) altamente purificada se uso como estándar. Cada estándar o muestra (10  $\mu$ l) fue adicionado a cada pozo

por duplicado y completado el volumen a 100  $\mu$ l con PBS/ Tween/Albúmina sérica bovina (ASB) 0.1% y la placa fue incubada a 37 C por una hora. Las placas fueron lavadas nuevamente por 3 veces con PBS/ Tween y se les agrego a cada pozo 100  $\mu$ l de anticuerpo policlonal anti-fracción  $\beta$ -HCG conjugado a peroxidasa (rabbit anti-fracción  $\beta$ -HCG-HRPO, Fitzgerald Industries, USA) a una dilución final de 1:2,000 e incubadas 37 C por una hora. Nuevamente se lavaron las placas en cinco ocasiones con PBS/Tween y se les agregó 100  $\mu$ l de TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (R&D) por 10 min. A temperatura ambiente protegido de la luz y se detuvo la reacción con 50  $\mu$ l de ácido sulfúrico 2 N. La placa fue leída en un lector de placas (E-Max, Molecular Device) a 450 nm y con referencia de 540 nm. Los valores fueron expresados en ng/ml. Los coeficientes de variación intra- e interesayo fueron menores al 8.5%. La sensibilidad del ensayo fue de 0.06 ng/ml.

---

### *Material y Métodos*

---

#### **HORMONA GONADOTROFINA CORIONICA INTACTA**

La determinación de HCG en el lavado cervico-vaginal fue realizada con una ELISA. Se siguió el mismo procedimiento anterior con algunas modificaciones. Las placas fueron sensibilizadas con un anticuerpo monoclonal anti-HCG (Fitzgerald Industries, USA) a una concentración de 8  $\mu$ l/ml con 0.2% azida de sodio en buffer de carbonatos–bicarbonatos, pH 9.5 por 2 horas a 37 C. La curva estándar fue hecha empleando HCG pura (NHPP, UCLA). Se pusieron 10  $\mu$ l de los estándares o muestras por duplicado y se completo el volumen de cada pozo a 100  $\mu$ l con PBS/Tween/0.1% ASB) e incubadas a 37 C por una hora, las placas se lavaron y se les agrego 100  $\mu$ l de anticuerpo anti-HCG (rabbit anti-



hCG intacta, NHPP, UCLA) a una dilución de 1:2,000 e incubadas a 37 C por una hora. Las placas se volvieron a lavar y se agregó 100 µl del conjugado cabra anti-rabbit HRPO (Dako) a una dilución de 1:2000 e incubadas a 37 C por una hora. Se lavaron nuevamente las placas y se les agregó finalmente 100 µl del TMB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (R&D), durante 12 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz, la reacción se detuvo con 50 µl de ácido sulfúrico 2 N. La lectura de las placas se hizo con un filtro de 450 nm y con una corrección usando un filtro de 540 nm. Los coeficientes de variación intra- e interesayo fueron menores al 6.5%. La sensibilidad del ensayo fue de 0.92 ng/ml.

---

### *Material y Métodos*

---

#### **Prolactina**

La cuantificación de PRL en el lavado cervico-vaginal se realizó mediante una prueba de ELISA previamente descrita (37). Las placas de ELISA de 96 pozos (Maxi-Sorp, NUNC) fueron sensibilizadas con 100 µl de una concentración de 3µg/ml de anticuerpo monoclonal anti-PRL (American Qualex) con 0.2% azida de sodio en buffer de carbonatos–bicarbonatos pH 9.5 por 2 horas a 37°C y durante toda la noche a 4°C. Posteriormente las placas necesarias para el ensayo se lavaron en 4 ocasiones con PBS/Tween 20 (0.05% de Tween) y las placas fueron bloqueadas con 300 µl de PBS/Tween 20 (0.05%) / 0.5% de leche descremada a 37°C durante una hora. Las placas se lavaron 4 veces con

PBS/Tween 20 (0.05%). Se utilizaron estándares y controles (Euro DPC Ltd, Gwynedd, UK. Cada estándar, controles y muestras fueron adicionados (100  $\mu$ L) a cada pozo por duplicado, posteriormente la placa fue incubada a 37 C por una hora. Las placas fueron lavadas nuevamente por 4 veces con PBS/ Tween y se les agrego a cada pozo 100  $\mu$ l de anticuerpo policlonal de conejo anti-PRL a una dilución final de 1:2,000 con PBS/Tween/ ASB al 0.1% en incubadas 37 C por una hora. Nuevamente se lavaron las placas en cinco ocasiones con PSB/Tween 20 y se les agregó 100 $\mu$ L de conjugado cabra anti-conejo (DAKO) marcado con HRPO (peroxidasa) a una dilución 1:2,000 con PBS/Tween/ ASB al 0.1%, se incubó una hora a 37°C, después se lavaron las placas de 5-6 veces. El conjugado unido, se reveló con 100 $\mu$ L de un cromógeno (OPD Ortofenildiamina 6 mg/12mL del amortiguador de citratos pH 5.0 mas 10  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%), el cual se incubó a temperatura ambiente protegido de la

---

### *Material y Métodos*

luz y se detuvo la reacción con 50  $\mu$  de ácido clorhídrico 3 N. La placa fue leída en un lector de placas (E-Max, Molecular Device) a 490 nm.

#### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico SPSS v11. La comparación de las variables continuas fue realizada con la prueba de *t* Student no pareada, ANOVA de una vía y usando la prueba de Scheffé para comparaciones múltiples a posteriori. Cuando las variables no mostraron una distribución normal se empleo la prueba de U de Mann-Whitney y la prueba de ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis. La comparación de las variables

categorías se hizo con la chi cuadrada con corrección de continuidad de Yates o la prueba exacta de Fisher para muestras pequeñas. Para comparar las variables categóricas en más de dos grupos se usó la chi cuadrada de tendencia lineal.

Las curvas características operantes del receptor se usaron para establecer el mejor punto de corte para el lavado cervicovaginal y la longitud cervical. En base a esto se determinó la sensibilidad, la especificidad, valores predictivos positivos y negativos de cada prueba con el cálculo de intervalos de confianza al 95% (IC95%).

Un valor de  $p$  bimarjinal o a dos colas menor a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo.

## RESULTADOS

**Descripción general.** Se estudiaron un total de 190 mujeres embarazadas con una edad media de  $26.7 \pm 5.8$  años, con una media de  $2 \pm 1.1$  gestas y con una edad gestacional de  $32.5 \pm 3.8$  semanas.

De las 190 mujeres embarazadas, 127 mujeres conformaron el grupo 1 (sin sospecha de RPM), 36 pacientes con sospecha de RPM y 27 pacientes con RPM. La comparación de las características clínicas y demográficas se muestra en la Tabla 1. La edad y el número de embarazos previos fueron similares entre los grupos. La edad gestacional a la toma de la muestra fue menor en el grupo 1 comparado al grupo 2, en contraste, la edad gestacional al parto fue significativamente menor en el grupo con RPM ( $p < 0.001$ )

	Diagnostico Final		Total
	<i>Sin RPM</i>	<i>Con RPM</i>	
<b>Grupo 1</b>	127	0	127
<b>Grupo 2</b>	32	4	36
<b>Grupo 3</b>	0	27	27
<b>Total</b>	159	31	190

**TABLA 1.** Un total de 190 pacientes, edad media de  $26.7 \pm 5.8$  años, gesta  $2 \pm 1.1$ , edad gestacional a la toma de la muestra de  $32.5 \pm 3.8$  semanas.

El periodo de latencia en días al parto fue significativamente mayor en el grupo 1 que en los grupos 2 y 3 ( $p \leq 0.013$ ) y significativamente mayor en el grupo 2 que en el grupo 3 ( $p < 0.001$ ). Similarmente, el peso del recién nacido fue significativamente menor en el grupo 3 que en los grupos 1 y 2 ( $p < 0.001$ ).

En todas las pacientes embarazadas sin sospecha de RPM a quienes se les hizo la prueba de nitrazina o cristalografía resultaron negativas a ellas, en cambio, estas pruebas fueron positivas en la mayoría de las pacientes con RPM que en las pacientes con sospecha de RPM ( $p < 0.001$ ). De igual forma, el ILA fue normal en todas las pacientes del grupo 1 que se les realizó dicho estudio. Aunque un ILA anormal (oligohidramnios) fue detectado en mayor frecuencia en las pacientes del grupo 3, no fue diferente a las pacientes del grupo 2. Las mediciones hormonales en el lavado cervico-vaginal mostraron que la PRL y la HCG fueron significativamente mayores en las pacientes del grupo 3 que en las del grupo 1 y 2 ( $p \leq 0.003$ ) y también significativamente mayores en el grupo 2 que en el grupo 1 sólo para la PRL ( $p < 0.001$ ), y no para la HCG. En cambio, la fracción  $\beta$ -HCG fue diferente solo entre el grupo 1 y 2. Tabla 2

**Características clínicas, demográficas y de laboratorio entre las pacientes con sospecha de RPM que tuvieron un diagnóstico final de RPM.** Entre las 36 pacientes con sospecha de RPM, sólo en 4 (11.1%) de ellas pudo establecerse el diagnóstico de RPM en base a su seguimiento. Las comparaciones entre las pacientes con sospecha de RPM pero sin diagnóstico final de RPM al seguimiento y las pacientes con sospecha de RPM y diagnóstico final de RPM se muestran en la Tabla 2. La edad fue similar entre ellas y el número de embarazos previos fue mayor en las mujeres sin diagnóstico de RPM ( $p = 0.008$ ).

**Tabla 1. Descripción general de la población estudiada y su correlación clínica, de los grupos de estudio.**

<b>Grupos de Estudio</b>				
<b>Variable</b>	<b>Control</b>	<b>Sospecha</b>	<b>RPM</b>	<b>Valor de p</b>
<b>Edad, media ± DE</b>	26.7 ± 5.7	26.6 ± 5.1	27.3 ± 7.3	0.827 *
<b>Gesta</b>	2.0 ± 1.1	2.1 ± 1.0	1.8 ± 1.2	0.496 *
<b>SDG Toma</b>	31.8 ± 3.4 <sup>a</sup>	34.5 ± 3.4	33.4 ± 4.6	0.005 *
<b>SDG Resolución</b>	38.1 ± 2.5	38.0 ± 2.1	33.6 ± 4.6 <sup>b</sup>	<0.001 *
<b>Latencia en días</b>	46.1 ± 25.6 <sup>a</sup>	31.9 ± 30.4	1.9 ± 2.6 <sup>b</sup>	<0.001 *
<b>Peso RN (g)</b>	2,942 ± 513	2,947 ± 384	2,220 ± 862 <sup>b</sup>	<0.001 *
<b>Nitrazina, n (%)</b>	0/55 (0.0) <sup>c</sup>	8/33 (24.2) <sup>d</sup>	22/26 (84.6)	<0.001 ‡
<b>Cristalografía (%)</b>	0/55 (0) <sup>c</sup>	4/30 (13.3) <sup>d</sup>	18/21 (85.7)	<0.001 ‡
<b>ILA / Pool</b>	0/51 (0.0) <sup>c</sup>	5/31 (16.1)	7/17 (41.1)	<0.001 ‡
<b>PRL (pg/ml), mediana (amplitud)</b>	0 (0–317.0) <sup>e</sup>	5.1 (0 -128,920.0)	39,885.0 (48.6 – 572,745.0) <sup>h</sup>	<0.001 †
<b>HCG (ng/ml)</b>	0.53 (0 – 78.17) <sup>f</sup>	1.22 (0 – 31.84)	8.36 (0 – 333.87) <sup>h</sup>	<0.001 †
<b>Fracción β-HCG (ng/ml)</b>	2.55 (0 – 92.07) <sup>g</sup>	1.34 (0 – 10.56)	3.38 (0 – 35.62)	<0.001 †

SDG = Semanas de gestación. (Toma = SDG que fue tomada la muestra. Resolución= SDG que fue resuelto el embarazo)  
 ILA = Índice de líquido amniótico (Phelan) se determinó si fue normal ó disminuido. Pool = Con técnica de bolsillo mayor.

\* ANOVA  
 ‡ Chi cuadrada de tendencia lineal  
 † Kruskal-Wallis  
<sup>a</sup> p<0.013 vs. Grupo 2 (prueba de Scheffe).  
<sup>b</sup> p<0.001 vs. Grupo 1 y 2 (prueba de Scheffe).  
<sup>c</sup> p<0.01 vs. Grupo 2 y 3 (prueba exacta de Fisher).  
<sup>d</sup> p<0.001 vs. Grupo 3 (prueba exacta de Fisher)  
<sup>e</sup> p<0.001 vs. Grupo 2 y 3 (prueba U de Mann-Whitney).  
<sup>f</sup> p<0.001 vs. Grupo 3 (prueba U de Mann-Whitney).  
<sup>g</sup> p=0.002 vs. Grupo 2 (prueba U de Mann-Whitney).  
<sup>h</sup> p<0.003 vs. Grupo 1 y 2 (prueba U de Mann-Whitney).

La edad gestacional a la toma de la muestra fue similar, en cambio, la edad gestacional al parto fue significativamente menor en las pacientes con confirmación de RPM ( $p=0.036$ ), en adición, el periodo de latencia, como el peso de sus recién nacidos fueron significativamente menores ( $p\leq 0.026$ ). La comparación de la prueba de nitrazina, cristalografía, ILA,  $\beta$ -HCG y HCG no mostraron diferencia, como tampoco la presencia de vaginosis o corioamnioitis ( $p\geq 0.11$ ). En cambio, la concentración de PRL cervico-vaginal fue significativamente mayor en la pacientes con confirmación de RPM (23,595.2 pg/ml [1,035.2 – 128,920.0 pg/ml] vs. 0 pg/ml [0 – 337.5 pg/ml],  $p<0.001$ ).

**Tabla 2. Descripción de factores asociados y datos clínicos de los grupos con diagnóstico definitivo.**

Variable	Sin RPM n=159	Con RPM n=31	Valor de p
Edad	26.6 ± 5.5	26.8 ± 7.3	0.907 *
Gestas	2.1 ± 1.1 (1-6)	1.7 ± 1.1 (0-5)	0.069 *
SDG Toma	32.4 ± 3.6	33.8 ± 4.4	0.04 *
SDG Resolución	38.2 ± 2.4	34.0 ± 4.3	<0.001 *
Latencia en días	44.0 ± 26.8	1.8 ± 2.4	<0.001 *
Peso RN (g)	2,935 ± 489	2,253 ± 812	<0.001 *
Nitrazina, n (%)	7/84 (8.3)	23/30 (76.7)	<0.001 ‡
Cristalografía (%)	3/82 (3.7)	19/24 (79.2)	<0.001 ¶
Cervico Vaginitis	33 (20.8)	14 (45.2)	0.008 ‡
Datos de infección	0 (0)	8 (25.8)	<0.001 ¶
ILA	4/76 (5.3)	8/19 (42.1)	<0.001 ¶
PRL (pg/ml)	0 (0 – 337.5)	39,885 (48.6 – 572,745.0)	<0.001 †
HCG (ng/ml)	1.08 (0 – 78.17)	6.27 (0 – 333.87)	<0.001 †
Fracción $\beta$ -HCG (ng/ml)	2.35 (0 – 92.07)	3.14 (0 – 35.62)	0.836 †

SDG: Semana de gestación. (Toma = SDG que fue tomada la muestra. Resolución= SDG que fue resuelto el embarazo)

Datos de infección: Cavidad hipertérmica, criterios de Gibbs,

\* t de student para muestras no pareadas.

‡ Chi cuadrada con corrección de continuidad de Yates.

¶ Prueba exacta de Fisher.

† prueba de U de Mann-Whitney.

**Características clínicas, demográficas y de laboratorio entre las pacientes con y sin RPM.** De las 190 mujeres embarazadas incluidas en el estudio, 31 (16.3%) tuvieron un diagnóstico final de RPM. Las comparaciones entre las pacientes sin RPM y las pacientes con RPM se muestran en la Tabla 3. La edad y el número de embarazos previos fueron similares. La edad gestacional al reclutamiento de las pacientes fue menor en las mujeres sin RPM ( $p=0.04$ ). En cambio, la edad gestacional al parto, así como el periodo de latencia entre la toma y el parto, y el peso de los recién nacidos fueron significativamente menores en las pacientes con RPM ( $p<0.001$ ). Una prueba positiva por nitrazina o cristalografía fue significativamente mayor en las pacientes con RPM. De igual forma, un ILA indicativo de oligohidramnios fue mayor en las pacientes con RPM ( $p<0.001$ ), así como la presencia de vaginosis ( $p=0.008$ ) y la ocurrencia de corioamnioitis ( $p<0.001$ ). La determinación hormonal en los lavados cervico-vaginales mostró que tanto la PRL como la HCG fueron significativamente mayores en las pacientes con RPM, en cambio, la fracción  $\beta$ -HCG no mostró diferencia ( $p=0.836$ ).



Tabla 3. Descripción del resultado final del grupo de sospecha de RPM

Variable	Grupo 2		Valor de p
	Sin RPM n=32	Con RPM n=4	
Edad	27.0 ± 4.8	23.3 ± 7.1	0.173 *
Gestas	2 (1-5)	1 (1)	0.008 †
SDG a la toma	34.3 ± 3.6	36.0 ± 1.6	0.298 *
SDG al parto	38.3 ± 2.0	36.0 ± 1.8	0.036 *
Latencia en días	35.9 ± 30.0	1.0 ± 0.8	0.028 *
Peso RN (g)	3,006 ± 368	2,492 ± 88	0.026 *
Nitrazina, n (%)	7/29 (24.1)	1/4 (25.0)	1.0 ¶
Cristalografía (%)	3/27 (11.1)	1/3 (33.3)	0.359 ¶
CV	21/32 (65.6)	1/4 (25.0)	0.277 ¶
Corio	0 (0)	1/4 (25.0)	0.111 ¶
ILA	4/29 (13.8)	1/2 (50.0)	0.301 ¶
PRL (pg/ml)	0 (0 – 337.5)	23,595.2 (1,035.2 – 128,920.0)	<0.001 †
HCG (ng/ml)	1.16 (0 – 31.84)	2.40 (1.14 – 12.88)	0.217 †
Fracción β-HCG (ng/ml)	2.35 ± 2.91	1.49 ± 1.37	0.566 *

\* t de student para muestras no pareadas.

† prueba de U de Mann-Whitney.

¶ Prueba exacta de Fisher.

**Utilidad diagnóstica de la fracción β-HCG, HCG y PRL cervico-vaginal en la RPM.** Para determinar la utilidad diagnóstica de las determinaciones hormonales en el lavado cervico-vaginal se hicieron curvas características operantes del receptor (COR) con el fin de establecer el mejor punto de corte para tales pruebas. La Figura 1 muestra las curvas COR para cada una de las pruebas. El área bajo la curva y sus intervalos de confianza (IC) al 95% para

cada hormona determinada se muestra en la Tabla 4. La PRL cervico-vaginal y la HCG tuvieron la mayor área bajo la curva (0.998 y 0.726, respectivamente [ $p < 0.001$ ], en cambio, el área bajo la curva para la fracción  $\beta$ -HCG no fue significativa (0.512,  $p = 0.836$ ). En adición, el área bajo la curva para la PRL fue significativamente mayor que para la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG ( $p < 0.001$ ) y el área bajo la curva de la HCG fue mayor que para la fracción  $\beta$ -HCG ( $p < 0.001$ ). El mejor punto de corte para la PRL cervico-vaginal fue  $>337.5$  pg/ml, para la HCG de  $>8.25$  ng/ml y para la fracción  $\beta$ -HCG  $\leq 0.027$  ng/ml. La sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos y la tasa de probabilidad se muestran en la tabla 5. Como se puede apreciar el rendimiento de la PRL fue excelente y muy superior a la HCG o fracción  $\beta$ -HCG, con sensibilidad de 96.8% (IC 95% 83.2–99.5%), la especificidad del 100% (IC 95% 97.7–100%). El valor predictivo positivo y negativo de 100% y 99.4%, respectivamente y la tasa de probabilidad positiva y negativa de 153.8 y 0.03, respectivamente.

**Tabla 4. Área bajo la curva de las diferentes determinaciones hormonales en la RPM**

<b>Prueba</b>	<b>Area bajo la curva</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor de p</b>
<b>PRL</b>	0.998	0.977 - 100	$<0.001$ *
<b>HCG</b>	0.726	0.656 – 0.788	$<0.001$ †
<b>Beta</b>	0.512	0.438 – 0.585	0.836
* $p < 0.001$ vs. HCG y Fracción $\beta$ -HCG † $p < 0.001$ vs. Fracción $\beta$ -HCG.			

En el caso de la HCG el rendimiento fue regular, con una sensibilidad de 50% y una especificidad del 93%. En cambio, la fracción  $\beta$ -HCG tuvo una mala utilidad para el diagnóstico de RPM, con una sensibilidad de 32.3% (menor a la probabilidad por el azar) y una especificidad de 86.8%. Un subanálisis de las pacientes que contaban con la prueba de nitrazina y de cristalografía, aunados a la determinación de hormonas en el lavado cervico-vaginal fue realizado para comparar las pruebas convencionales y las determinaciones hormonales. Este subanálisis incluyó 103 pacientes, de las cuales 22 (21.4%) se confirmó el diagnóstico de RPM. Las curvas COR para estas pruebas se muestran en la Figura 2. El área bajo la curva de la PRL fue mayor que para la nitrazina, cristalografía, HCG y fracción  $\beta$ -HCG ( $p < 0.001$ ), Tabla 5.

<b>Prueba</b>	<b>Punto de corte</b>	<b>Sensibilidad (IC 95%)</b>	<b>Especificidad (IC 95%)</b>	<b>Valor Predictivo + (IC 95%)</b>	<b>Valor Predictivo - (IC 95%)</b>	<b>Tasa de Probabilidad +</b>	<b>Tasa de Probabilidad -</b>
<i>PRL</i>	> 337.5	96.8 (83.2 – 99.5)	100 (97.7 -100)	100	99.4 (98.2–100)	153.8	0.03 (0.0047–0.2218)
<i>HCG</i>	> 8.25	50.0 (43.5 – 87.3)	93.0 (31.3 – 98.7)	57.7 (38.7 – 76.7)	90.7 (86.3 – 95.2)	7.18 (3.66–14.08)	0.54 (0.37–0.77)
<i>β-HCG</i>	≤0.27	32.3 (16.7 – 51.4)	86.8 (80.5 – 91.6)	32.3	86.8	2.44	0.78
Intervalo de confianza 95%							

**Tabla 5. Utilidad diagnóstica de las determinaciones hormonales en la RPM**

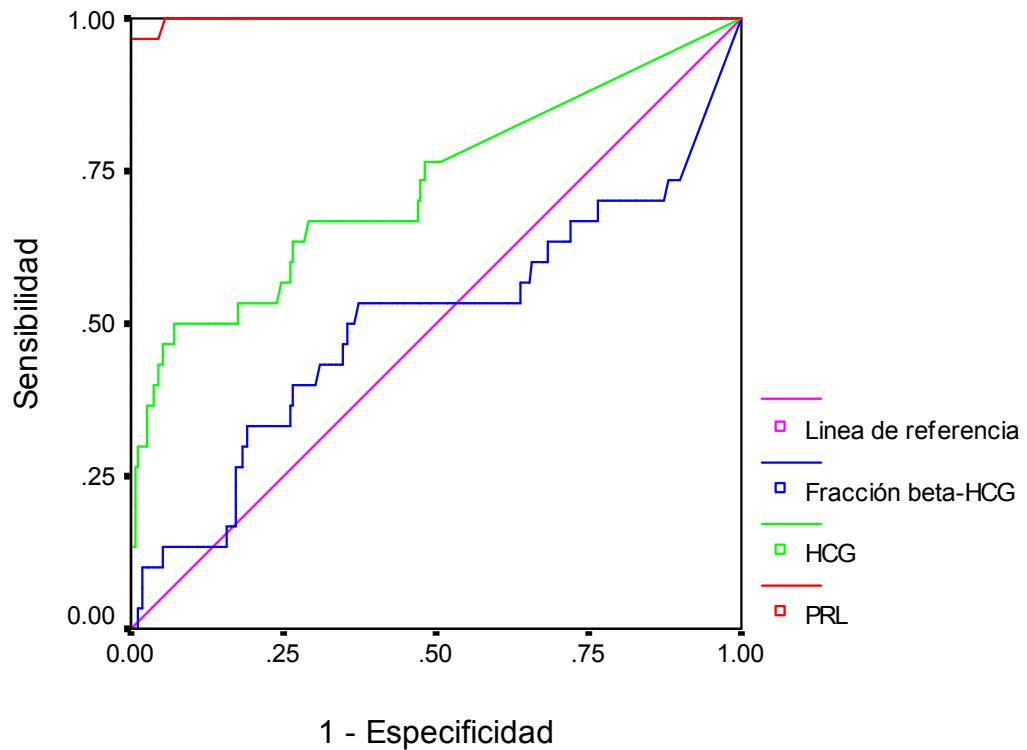
Tabla 6.

Prueba	Area bajo la curva	IC 95%	Valor de p
<i>PRL</i>	0.997	0.958 - 1.00	<0.001 *
<i>HCG</i>	0.707	0.609 – 0.792	0.003 †
<i>Beta</i>	0.541	0.440 – 0.640	0.557
<i>Nitra</i>	0.820	0.732 – 0.889	<0.001 ‡
<i>Cristalografía</i>	0.868	0.787 – 0.926	<0.001 ‡

\*  $p \leq 0.01$  vs. HCG, Fracción  $\beta$ -HCG, Nitrazina y Criatalografía.

†  $p \leq 0.044$  vs. Fracción  $\beta$ -HCG y Cristalografía.

‡  $p \leq 0.001$  vs. Fracción  $\beta$ -HCG.



Los puntos de corte ideal se muestran en la Tabla 6. El comportamiento de la PRL, HCG y fracción  $\beta$ -HCG fueron similares a los obtenidos en las 190 pacientes.

La utilidad de la nitrazina y la cristalografía fue significativamente mayor que para la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG ( $p \leq 0.044$ ), pero significativamente menor que a la PRL ( $p < 0.01$ ). La sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, y las tasas de probabilidad se muestran en la Tabla 6.

## **DISCUSIÓN**

Ninguna prueba diagnóstica para la RPM con las que contamos hasta la fecha se considera satisfactoria, a pesar de que varias de ellas han demostrado tener alta sensibilidad y especificidad, tienen la desventaja de dar altas tasas de falsos positivos o falsos negativos. En este estudio se mostró que tanto la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG tienen una baja utilidad en el diagnóstico de RPM. Con valores de sensibilidad y especificidad menores a los reportados en estudios previos 60% en promedio. Sin embargo, cuando comparamos los resultados obtenidos en esos estudios con los nuestros, los valores de sensibilidad y especificidad son semejantes cuando incluimos los IC 95% (24). En otro estudio reportado por Esim y cols. reportó una sensibilidad del 68% y especificidad del 90% en 28 pacientes, lo que apoya nuestra conclusión de que la fracción  $\beta$ -HCG y HCG tienen un pobre rendimiento diagnóstico en la RPM (25).

En otro estudio más reciente, Shanin encontró que a un punto de corte de 30.8 ng/ml de la fracción  $\beta$ -HCG tuvo una sensibilidad y especificidad de 84% y 72%, respectivamente, la sensibilidad fue mayor a la reportada previamente por otros autores y a nuestros resultados, pero con especificidad semejante. La discrepancia entre estos resultados y los nuestros pueden ser debidos principalmente a los criterios de selección de las pacientes, ya que nuestras pacientes tuvieron una edad gestacional menor a la de la mujeres incluidas en reportes previos, ya que es sabido que la concentración de HCG en líquido amniótico varía a través del embarazo, presentando una máxima elevación (pico) durante el primer trimestre, llegando hasta 250,000 mUI/ml, declinando la concentración y encontrando la concentración más baja posterior a las 29 SDG de 10,000 mUI/ml. Por otro lado, de acuerdo a la selección de las pacientes y su seguimiento podemos inferir que nuestras pacientes fueron bien clasificadas, como lo muestra la menor edad gestacional al parto y el menor tiempo de latencia entre la toma de muestra y el parto (media de 1.8 días). En base a las concentraciones relativamente menores de la fracción  $\beta$ -HCG y de la HCG en el lavado cervico-vaginal encontradas en las pacientes estudiadas, sugieren que el bajo rendimiento de estas hormonas en el diagnóstico de la RPM también pueda ser debido a la presencia de orina en el canal vaginal, es decir, contaminación vaginal con orina, ya que es bien sabido que la HCG como la fracción  $\beta$ -HCG están presentes en cantidades importantes en la orina, en adición, uno de los diagnósticos diferenciales más importantes para RPM es la

incontinencia urinaria de esfuerzo, al cual se presenta principalmente durante el tercer trimestre.

La PRL en lavado cervico-vaginal para el diagnóstico de RPM se ha evaluado previamente, reportando que a puntos de corte de 20  $\mu$ UI/ml (885 pg/ml) y 30  $\mu$ UI/ml (1,327 pg/ml) tiene una sensibilidad de 66–76%, especificidad de 70–96% (29), estos estudios fueron realizados en un número de pacientes semejantes a nuestra población (50 RPM sin y 50 con RPM, y 32 sin RPM y 32 con RPM, respectivamente). Nuestros resultados, usando una técnica ultrasensible para medir PRL demostramos que la PRL tuvo la mejor utilidad diagnóstica en la RPM, con un punto de corte ideal de  $>337.5$  pg/ml tuvo una sensibilidad de 96.8% y especificidad del 100%. Nuestros resultados pueden ser debidos a que usamos una prueba muy sensible para PRL, con un límite de detección de 10 pg/ml y que aunque existiera contaminación vaginal por orina en nuestra población de mujeres embarazadas estudiadas, la presencia de orina en la vagina no interferiría en la medición de la PRL de origen amniótico, ya que la PRL urinaria en mujeres embarazadas sin patología renal (específicamente con daño glomerular) como las que fueron incluidas en este estudio, es de nula a cantidades menores a 1,000 pg/ml (Fuente: Dr. Alfredo Leños Miranda, datos aún no publicados), a diferencia de las altas concentraciones en la orina de otras hormonas como la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG.



Además su utilidad también puede radica en que la concentración de PRL sérica y en el líquido amniótico se mantiene en ascenso durante todo el embarazo, declinando al final del embarazo

En conclusión, demostramos que la utilidad de la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG en el lavado cervico-vaginal para el diagnóstico de RPM es pobre, en cambio, la PRL tiene un alto rendimiento diagnóstico con una alta sensibilidad y especificidad en la RPM. La PRL en el lavado cervico-vaginal usando una prueba ultrasensible para cuantificar PRL es un método ideal en el diagnóstico de la RPM y especialmente en casos no concluyentes de RPM.

## CONCLUSIONES

En conclusión, demostramos que la utilidad de la HCG y la fracción  $\beta$ -HCG en el lavado cervico-vaginal para el diagnóstico de RPM es malo, en cambio, la PRL tiene un alto rendimiento diagnóstico con una alta sensibilidad y especificidad en la RPM. La PRL en el lavado cervico-vaginal usando una prueba ultrasensible para cuantificar PRL es un método ideal en el diagnóstico de la RPM y específicamente en casos no concluyentes de RPM.

Dentro de los resultados que se obtuvieron en la determinación de HCG intacta (completa fracción  $\alpha$  y  $\beta$ ) los valores diagnósticos fueron mejores, en el estudio. En estudios previos reporta Cooper reporta una detección de HGC en pacientes con RPM, reportando una sensibilidad del 79%, especificidad 96%, y altos valores predictivos, utilizó placas pre fabricadas con una sensibilidad de detección de 25 mUI/L.

En nuestro estudio la cuantificación de la HCG intacta en el grupo control se determinó concentraciones que en condiciones fisiológicas existen habitualmente. Los valores diagnósticos de la HCG intacta respecto a la HCG fracción  $\beta$ , presentó mejores resultados para diagnosticar RPM, ya que la cantidad detectada fue mayor, presentando diferencias significativamente estadísticas, pero sin llegar a tener valor diagnóstico.

La PRL en nuestro estudio presentó altos valores diagnósticos sobre pasando la HGC intacta y fracción  $\beta$ , medida a través de pico gramos, a diferencia de otros estudios ya publicados; Shahim reportó un estudio comparativo donde incluyó la PRL, reportando en su grupo control una concentración fue de 7 – 16 $\mu$ g, y de 10 – 28 $\mu$ g para el grupo de RPM, con una  $P < 0.001$ , la medición fue reportada en microgramos. En nuestro estudio con técnicas previamente estandarizadas, la determinación se llevo a cabo en pico gramos, con resultados con alto valor diagnóstico. Por lo que se concluye en términos generales que una prueba confiable y altamente sensible es la determinación de PRL en lavado vaginal en pacientes con RPM con ó sin demás pruebas diagnósticas positivas, debido a los niveles permanentes y en aumento de esta hormona, además de que es necesaria la utilización de técnica ultra sensible para este fin. Se sugiere para estudios a futuro aumentar el número de muestra, separar por grupos de SDG para determinar si existen diferencias por este motivo, además de llevar un seguimiento de las pacientes para determinar de manera adecuada el diagnóstico final (RPM).

## ANEXO 1

### CARTA DE CONSENTIMIENTO

#### ***Utilidad de la HGC fracción Beta en secreción vaginal para el diagnóstico de ruptura de membranas pretérmino***

El propósito de esta carta es darle la información necesaria para que usted decida su participación en el estudio. Investigadores: *Dr. Sebastián Carranza Lira, Dra. Olivia Sánchez Rodríguez, Dr. Alfredo Leños Miranda y Dra. Lizbeth Chinolla Arellano.*

**Propósito del estudio:** Se le ha pedido participar en un estudio que se está realizando en mujeres embarazadas que consiste pruebas de detección de ruptura de membranas en secreciones cervicovaginal. Si decido participar tendré que proporcionar muestra de secreciones vaginales en una sola ocasión.

**Riesgo del estudio:** Yo comprendo que no existe riesgo alguno con la toma de las muestras, pero que esta puede ser molesta. Se me ha explicado que los beneficios de este estudio son determinar el diagnóstico de la ruptura de membranas, así disminuir los riesgos perinatales al no ser detectada.

**Compensación:** Se me ha explicado que no recibiré compensación alguna de tipo monetaria por participar en este estudio. Y que no pagaré nada por participar en este estudio.

**Confidencialidad:** Comprendo que los resultados en caso de ser relevantes en la evolución del mi embarazo se me darán a conocer a la brevedad posible. Las pruebas se discutirán conmigo y será confidencial a menos que yo disponga lo contrario, mi identidad será mantenida en forma confidencial conforme lo señala la ley.

**La participación es voluntaria:** Me han explicado que la participación en este estudio es voluntaria. Si decido abandonar el estudio, esto no será obstáculo para ningún tratamiento que esté recibiendo o tenga que recibir, y no afectará mis consultas médicas actuales o futuras en los servicios médicos que ofrece el Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala".

**Preguntas:** Puedo ponerme en contacto con los investigadores del proyecto: al teléfono 55506422. Ext. \_\_\_\_\_

Nombre con letra de molde y firma: \_\_\_\_\_ -

## REFERENCIAS

1. Hyagriv N, Canavan T. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis evaluation and management strategies. BJOG 2005; (1) 112 Suppl 1:32-37.
2. Brace R. Physiology of Amniotic Fluid Volume Regulation. Clinical Obstet Gynecol 1997; 40 (2): 280-289.
3. Moore TR, Cayle JE. The amniotic fluid index in normal human pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1990;162: 1168–1173.
4. Brace RA, Wolf EJ. Normal amniotic fluid volume changes throughout pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1989;161: 382–388
5. Parry S, Strauss J. Premature rupture of the fetal membranes. NEJM 1998; 338 (10): 663-665.
6. Davidson K. Detection of premature rupture of the membranes. Clinical Obstet Gynecol 1991; 34 (4):715-721.
7. French J, McgregorJ, Draper D. Gestational bleeding, bacterial vaginosis, and Common reproductive tract infections: risk for Preterm birth and benefit of treatment. Obstet Gynecol 1999;93:715–24.
8. Mercer B. Preterm Rupture of membranes. Obstet Gynecol 2003; 101 (1): 178–193.
9. Canavan T, Simhan H. An Evidence-Based Approach to the Evaluation and Treatment of Premature Rupture of Membranes: Part I. Obstet Gynecol Survey 2004; 59 (9): 669-677.
10. Canavan T, Simhan H. An Evidence-Based Approach to the Evaluation and Treatment of Premature Rupture of Membranes: Part I. Obstet Gynecol Survey 2004; 59 (9): 678-689.
11. Simhan H, Canavan T. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis, evaluation and management strategies. BJOG 2005; 112 (1): 32–37.
12. French J, McGregor J. Gestational Bleeding, Bacterial Vaginosis, and Common Reproductive Tract Infections: Risk for Preterm Birth and Benefit of Treatment. Obstet Gynecol. 1999; 93:715–24.

13. Vuadens F; Benay C; Crettaz D. Identification of biologic markers of the premature rupture of fetal membranes: proteomic approach. [Proteomics. 2003; 3\(8\):1521-5](#)
14. Gaucherand P, Guibaud S. Diagnosis of premature rupture of the membrane by the identification of alpha-feto-protein in vaginal secretion. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994; 73: 456-9.
15. Zaneveld, L.J., Tauber, P.F., Port, C., Proping, D. and Schumacher, G.F. (1975) Structural aspects of human cervical mucus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122, 650-654.
16. Elmfors B, Tryding N, Tuffuesson G. The diagnosis of ruptured fetal membranes by measurement of the diamino-oxydase (DAO) activity in vaginal fluid. *J Obstet Gynecol Br Cwlth* 1974; 81: 361-2.
17. Wong F. Tests for the detection of ruptured fetal membranes—a review. *Obst Gynecol* 1985; 7 (8) 1474.
18. Abe T. The detection of the rupture of fetal membrane with the nitrazine indicator. *Am J Obstet Gynecol* 1940; 39: 400-4.
19. Mills AM, Garpioch DB. Use of the nitrozone yellow swab test in the diagnosis of ruptured membranes. *Br J Obstet Gynaecol* 1977; 84: 138-40.
20. Gurbuz A, Karateke A, Kabaca C. Vaginal fluid creatinine in premature rupture of membranes *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 85 (2004) 270–271.
21. Li HY. Chag TS. Vaginal fluid creatinin, human chorionic gonadotropin and alphafetoprotein levels for detecting premature rupture of membranes. *Chung Hua I Hsuch Tsa Chih (Taipei)* 2000; 63-9: 686-90
22. Kletzy OA, Rossman F, Dynamics of humans chorionic gonatropin, prolactin and growth hormone in serum and amniotic fluid throughout normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 151:878-4.
23. Birken S, Kovalevskaya G, O'Connor J. Immunochemical Measurement of Early Pregnancy Isoforms of hCG: Potential Applications to Fertility Research, Prenatal Diagnosis, and Cancer. *Archives of Medical Research* 2001; 32: 635–643.

24. Cooper A, Vermillion S, Soper D. Qualitative human chorionic gonadotropin testing of cervicovaginal washings for the detection of preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 593-7.
25. Esim E, Turan C, Unal O. Diagnosis of premature rupture of membranes by identification of  $\beta$ -HGC in vaginal washing fluid. *Eur J Obst and Gyne and Reprod Biol.* 107 (2003) 37-40.
26. Shaarawy M, El-Minawi E-A. Prolactin and calcitropic hormones in preterm premature rupture of membranes. *Int J Gynecol Obstet* 84 (2004) 200–207.
27. Young-Han K, Yong-Won P, Han-Sung K. Vaginal fluid b-human chorionic gonadotropin level in the diagnosis of premature rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84: 802–805. Koninckx PR, Trappeniers H, Van Assche FA. Prolactin concentration in vaginal fluid: a new method for diagnosing ruptured membranes. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 88: 607-10.
28. Birken S, Maydelman Y, Gawinowicz MA, Pound A, Liu Y, Hartree. AS. Isolation and characterization of human pituitary chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 1996;137:1402.
29. Buyukbayrak E, Turan C, Unal O. Diagnostic power of the vaginal washing-fluid prolactin assay as an alternative method for the diagnosis of premature rupture of membranes. [J Matern Fetal Neonatal Med. 2004; 15 \(2\):120-125.](#)
30. Sherer D. A Review of Amniotic Fluid Dynamics and the Enigma of Isolated Oligohydramnios. *Am J Perinatology* 2002; 19 (5): 253-266.
31. Winer N, David A, Leconte P. Amniocentesis and amnioinfusion during pregnancy. *Eur J. Obst Gynecol Rep Biol* 2001; 100: 102-111.
32. Hnat M, Mercer B. Perinatal outcomes in women with preterm rupture of membranes between 24 and 32 weeks of gestation and a history of vaginal bleeding. *Am J of Obstet and Gynecol* (2005);193:164.
33. Norma y procedimientos en Obstetricia 2005, Hospital Luis Castelazo Ayala.
34. Hills FA, Gunn LK, Hardiman P. IGFBP-1 in the placenta, membranes and fetal circulation: levels at term and preterm delivery. *Early Hum Dev* 1996; 44: 71-6.

35. Mercer B. Is There a Role for Tocolytic Therapy During Conservative Management of Preterm Premature Rupture of the Membranes? *Clinic Obstet Gynecol* 2007; 50 (2): 487-496.
36. Crawford RA, Hills FA, Elevated levels of insulin-like growth factor binding protein 1 in fetal distress. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 538-40.
37. Leños-Miranda A, Contreras-Hernandez I. Anti prolactin autoantibodies are associated with hyperprolactinemia status in men infected with human immunodeficiency virus. *Endocrine* 2002; 19:139-146.