



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado
Instituto Mexicano del Seguro Social
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Ginecología y Obstetricia No.3 "La Raza"**

**TESIS DE POSGRADO
N° de Registro R-2018-785-135**

**Para obtener el título de:
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

**"BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN DE CORIOAMNIONITIS
HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA-PRETÉRMINO DE
MEMBRANAS"**

PRESENTA: DRA. MARTHA ANGÉLICA MEJÍA UGARTE

ASESOR: DRA. MARÍA NALLELY MORENO URIBE

Investigadores asociados:

Dra. Analilia Sandoval Mejía

QFB. Rodrigo Romero Nava

Dr. Raigam Jafet Martínez Portilla

Ciudad de México, Julio 2019.



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.

IDENTIFICACION DE LOS INVESTIGADORES

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Nombre: Dra. María Nallely Moreno Uribe

Área de adscripción: Médico Especialista en Ginecología y Obstetricia. Medicina Materno Fetal, Medicina Crítica en Obstetricia

Domicilio: Av. Vallejo esq. Antonio Valeriano s/n Col. La Raza Delg. Azcapotzalco

Teléfono: Tel. 57245900, Ext 23710

Correo electrónico: moreno.uribe.nallely@gmail.com

Área de Especialidad: Medicina Materno Fetal

INVESTIGADORES ASOCIADOS ADSCRITOS AL IMSS

Nombre: Dra. Analilia Sandoval Mejía.

Área de adscripción: Jefe de Servicio de Anatomía Patológica

Domicilio: Av. Vallejo esq. Antonio Valeriano s/n Col. La Raza Déleg. Azcapotzalco

Teléfono: Tel. 57245900, Ext. 23710

Correo electrónico: yupi1972@hotmail.com

Área de Especialidad: Anatomía Patológica

Nombre: Dra. Martha Angélica Mejía Ugarte

Área de adscripción: Residente de 3 er año / HGO 3 CMN La Raza

Domicilio: Av. Vallejo esq. Antonio Valeriano s/n Col. La Raza Delg. Azcapotzalco

Teléfono: 7225691383

Correo electrónico: angelica.555@hotmail.com

Área de Especialidad: Ginecología y Obstetricia

Nombre: QFB. Rodrigo Romero Nava

Área de adscripción: Hospital Infantil de México, "Federico Gómez"

Domicilio: Dr. Márquez 162, Col. Doctores. Del. Cuauhtémoc. Ciudad de México

Teléfono: 5552289917

Correo electrónico: roloromer@gmail.com

Área de Especialidad: Laboratorio de Investigación y Toxicología.

INVESTIGADORES ASOCIADOS NO ADSCRITOS AL IMSS

Nombre: Dr. Raigam Jafet Martínez Portilla

Área de adscripción: Fetal i+D Fetal Medicine Research Center, BCNatal – Barcelona Center for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Deu), Institut Clínic de Ginecologia, Obstetricia i Neonatologia, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Domicilio: Sabino de Arana 1, 08028 Barcelona, España

Teléfono: +34 932275400 (ext. 7252)

Correo electrónico: rjmartinez@clinic.cat

Área de Especialidad: Medicina y Cirugía fetal



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Promoción de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



Dictamen de Aprobación

Miércoles, 12 de diciembre de 2018

Ref. 09-B5-61-2800/201800/ 3 1 5 0

Dr. MARIA NALLELY MORENO URIBE
HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA NUM. 3, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
D.F. Norte

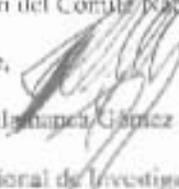
Presente:

Informo a usted que el protocolo titulado: **BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN DE CORIOAMNIONITIS HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA-PRÉTERMINO DE MEMBRANAS**, fue sometido a la consideración de este Comité Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas vigentes, con base en las opiniones de los vocales del Comité de Ética en Investigación y del Comité de Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica del IMSS, se ha emitido el dictamen de **APROBADO**, con número de registro: R-2018-785-135.

De acuerdo a la normatividad vigente, deberá informar a esta Comité en los meses de enero y julio de cada año, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo. Este dictamen sólo tiene vigencia de un año. Por lo que en caso de ser necesario requerirá solicitar una reaprobación al Comité de Ética en Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica, al término de la vigencia del mismo.

Atentamente,


Dr. Fabio Salazar, Gómez
Presidente
Comité Nacional de Investigación Científica

Anexo comentarios:
Se anexa dictamen y comentario
SNN/iah. F-CNIC-2018-163

IMSS

SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA

Av. Cuauhtémoc s/n, México DF, C.P. 06702, México, Tel: 55 2346 1000, Fax: 55 2346 1001

FIRMAS DE AUTORIZACIÓN

Dr. Juan Carlos Hinojosa Cruz

Director de Educación e Investigación en Salud del Hospital Ginecología y Obstetricia N° 3 CMN La Raza

Dra. Verónica Quintana Romero

Jefe de la División de Educación en Salud del Hospital Ginecología y Obstetricia N° 3 CMN La Raza

Dr. Juan Antonio García Bello

Jefe de la División de Investigación en Salud del Hospital Ginecología y Obstetricia N° 3 CMN La Raza

Dra. María Nallely Moreno Uribe

Médico Especialista en Medicina Materno Fetal del Hospital Ginecología y Obstetricia N° 3 CMN La Raza

AGRADECIMIENTOS

A Dios, quien con su bendición llena siempre mi vida

A mi madre, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis hermanas por estar conmigo y apoyarme siempre, las quiero mucho.

A mi sobrino para que veas en mí un ejemplo a seguir.

A mis maestros de este hospital en especial a la Dra. Nallely Moreno por haberme guiado, no solo en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi formación como médico residente y haberme brindado el apoyo para desarrollarme profesionalmente y seguir cultivando mis valores. A mi querido amigo Dr. Raigam Jafet Martinez, a quien estimo tanto y a quien debo su apoyo incondicional, por facilitarme los caminos para seguir, sin pedir nada a cambio y sin dudar de mi capacidad.

A todas las personas que nos han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial al QFB. Rodrigo, Dra. Analilia, Dr. Fausto y Dra. Rashidi que compartieron sus conocimientos y facilitaron la realización de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	7
MARCO TEÓRICO	9
JUSTIFICACIÓN.....	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	20
OBJETIVOS	20
HIPÓTESIS.....	21
MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
DISEÑO DE ESTUDIO.....	22
UNIVERSO DE TRABAJO.....	22
LUGAR O SITIO DEL ESTUDIO.....	22
CRITERIOS DE SELECCIÓN	22
MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	23
OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	24
PROCEDIMIENTO.....	27
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	28
ASPECTOS ÉTICOS	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSION.....	37
CONCLUSIONES	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	43
ANEXOS	44
ANEXO 1 Consentimiento informado	44
ANEXO 2. Instrumento de recolección de datos.....	45
ANEXO 3. Procedimiento para ELISA	46
ANEXO 4. Carta de confidencialidad	47
ANEXO 5 Carta de anuencia con implicaciones de bioseguridad.....	48
ANEXO 6: Bioseguridad.....	49

RESUMEN

BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN DE CORIOAMNIONITIS HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA-PRETÉRMINO DE MEMBRANAS

Antecedentes: La corioamnionitis histológica ocurre en aproximadamente el 50-60% de las mujeres con ruptura prematura de membranas pretérmino (RMP-P), contribuyendo con nacimiento prematuro inminente y sepsis neonatal, enfermedad pulmonar crónica y lesión cerebral. Estudios previos han demostrado que la medición de los niveles de PCR, IL6, IL8, IL10 y recuento leucocitario séricos (WBC) son marcadores no invasivos para diagnosticar corioamnionitis histológica antes del nacimiento en mujeres con RPM-P. Sin embargo, ninguno de estos factores parece ser suficiente de forma individual. Es por ello que la predicción de corioamnionitis histológica requiera utilizar una combinación de diferentes marcadores.

Objetivo: Diseñar un modelo de predicción de corioamnionitis histológica basado en medición de biomarcadores inflamatorios en suero materno asociado a parámetros clínicos en pacientes con RPM-P.

Métodos: Estudio analítico, observacional, transversal, prospectivo. Se evaluaron: corioamnionitis histológica, temperatura, frecuencia cardiaca materna, frecuencia cardiaca fetal, leucocitosis, concentración sérica de IL6, IL8, IL10, PCR, edad gestacional al momento de la ruptura de membranas y tiempo de exposición de la ruptura de membranas.

Plan de análisis estadístico: Estadística descriptiva considerando la distribución de las variables y el tipo de ellas. Para la asociación entre corioamnionitis histológica y las variables independientes se utilizó regresión logística por pasos. El rendimiento predictivo para corioamnionitis histológica se realizó con una curva operativa del receptor (ROC). El análisis fue realizado con STATA 15 para Mac OS X. El valor $P < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados: Se incluyeron 93 pacientes embarazadas con RPM-P. El modelo basal de características clínicas tuvo un área bajo la curva del 75.4%. El segundo modelo compuesto del modelo basal clínico y la adición del conteo leucocitario tuvo un área bajo la curva del 89.1%. ($p < 0.001$). El desempeño diagnóstico de las moléculas IL-6, IL-8, IL10 y PCR fue pobre para la predicción de corioamnionitis histológica (Área bajo la curva de 51%, 56%, 57% y 52% respectivamente).

Conclusiones: El proceso de inflamación intraamniótica es un proceso variable con diferentes grados de severidad.

Palabras clave: Ruptura prematura de membranas, corioamnionitis, PCR, IL6, IL 8, IL 10.

ABSTRACT

NON-INVASIVE BIOMARKERS FOR THE PREDICTION OF HISTOLOGICAL CHORIOAMNIONITIS IN PATIENTS WITH PRELABOR RUPTURE OF MEMBRANES

Background: Histological chorioamnionitis occurs in approximately 50-60% of women with Prelabor Rupture of Membranes (PROM), contributing to imminent PRETERM DELIVERY and neonatal sepsis, chronic lung disease and brain injury. Previous studies have shown that the measurement of PCR, IL6, IL8, IL10 and White blood cell counts (WBC) levels are non-invasive markers for diagnosis OF histological chorioamnionitis before DELIVERY in women with PROM. However, none of these factors seems to be sufficient individually. That is why the prediction of histological chorioamnionitis requires using a combination of different markers.

Objective: To design a prediction model of histological chorioamnionitis based on inflammatory biomarkers in maternal serum associated with clinical parameters in patients with PROM.

Methods: Analytical, observational, transversal, prospective study. Were evaluated: histological chorioamnionitis, temperature, maternal heart rate, fetal heart rate, White blood cell counts, serum concentration of IL6, IL8, IL10, PCR, gestational age at the time of rupture of membranes and exposure time of membrane rupture.

Statistical analysis plan: Descriptive statistics Distribution of variables and type of variables. For the association between histological chorioamnionitis and the independent variables logistic steps are recorded. The predictive performance for histological chorioamnionitis was performed with a receiver operating curve (ROC). The analysis was performed with STATA 15 for Mac OS X. The P value <0.05 is considered statistically significant.

Results: 93 pregnant patients with PROM were included. The basic model of clinical characteristics had an area under the curve of 75.4%. The second model composed of the clinical basal model and the addition of the White blood cell count had an area under the curve of 89.1%. ($p < 0.001$). The diagnostic performance of the molecules IL-6, IL-8, IL10 and PCR was poor for the prediction of histological chorioamnionitis (Area under the curve of 51%, 56%, 57% and 52% respectively).

Conclusion: The process of intraamniotic inflammation is a variable process with different degrees of severity.

Key words: Premature rupture of membranes, chorioamnionitis, PCR, IL6, IL 8, IL 10.

MARCO TEÓRICO

Definición

La ruptura prematura de membranas (RPM) se define como la pérdida de la continuidad espontánea de las membranas corioamnióticas que ocurre antes del inicio del trabajo de parto. ¹

Epidemiología

La RPM se presenta en el 3% de los embarazos y es responsable de una tercera parte de los nacimientos pretérmino. Se le ha relacionado hasta con un 10% de la mortalidad perinatal y a un aumento en la morbilidad materno fetal infecciosa dada por corioamnionitis e infección puerperal. ²

Clasificación

Se clasifica en previsible, remoto del término y cerca del término. La RPM previsible es la que ocurre antes de la viabilidad fetal. Este límite de viabilidad varía de acuerdo a cada institución y experiencia de su unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN). En algunos países se le considera, cuando es menor de 23 semanas de gestación y complica del 0.6-0.7% de los embarazos. El pronóstico neonatal es muy malo, ya que el nacimiento inmediato es letal. La RPM remota al término es la que se presenta de la viabilidad fetal hasta las 32 semanas de gestación. Este grupo es el que más se beneficia del manejo conservador, ya que, en el nacimiento inmediato, en recién nacidos con un peso menor a 1,500 gramos, se asocia a elevadas complicaciones como la prematuridad, por lo que se debe procurar prolongar el embarazo con el objetivo de reducir la morbilidad perinatal. La RPM cercana al término es cuando se presenta de las 32 a 36 semanas de gestación. El principal riesgo para el neonato en este caso consiste en la infección, más que las complicaciones de la prematuridad.

Factores de riesgo

La ruptura prematura de membranas a término se produce principalmente por modificaciones fisiológicas de las membranas y la fuerza ejercida por las contracciones uterinas. En cambio, la RPM es un fenómeno multifactorial. Entre los principales factores de riesgo descritos se encuentra la infección, diagnosticada con cultivo de líquido amniótico positivo, como factor causal de RPM, se ha descrito hasta en 36 a 50% de los casos, porcentaje que aumenta a 75% en pacientes que inician el trabajo de parto. La vía más común es la ascendente, a través del paso de microorganismos patógenos desde la vagina o el cérvix hacia la decidua, corion, amnios, cavidad amniótica y feto. Sin embargo, se han descrito otras vías de infección como la hematógena, desde la cavidad peritoneal y por procedimientos invasivos como la amniocentesis y la biopsia corial.

Entre los gérmenes que con más frecuencia se han aislado de la cavidad amniótica a través del cultivo del líquido amniótico, se encuentran, Ureaplasma urealyticum,

Fusobacterium sp, Mycoplasma hominis, Estreptococos del grupo B, E. viridans, G. vaginalis, Bacteroides fragilis, E. coli, S. aureus, entre otros.²

Diversos factores incrementan la incidencia de corioamnionitis. Entre ellos, en primer lugar, un periodo de latencia prolongado desde la ruptura de las membranas; a este respecto, no existe unanimidad sobre cuál es el periodo mínimo para que el riesgo exista (según los autores varía entre 12 y 24 horas). También son factores de riesgo el bajo nivel socioeconómico, tabaquismo, alcoholismo, el oligohidramnios, las maniobras diagnósticas o terapéuticas, el trabajo de parto (sobre todo la prolongación del mismo), y la edad de gestación^{3,4}

Fisiopatología

La invasión bacteriana del espacio coriodecidual activa monocitos en la decidua y en las membranas fetales, produciendo finalmente un incremento en factores proinflamatorios, incluyendo entre otros, TNF alfa, IL 1a, IL 1b, IL6, IL8 y factor estimulante de colonias granulocíticas. Algunas de estas citocinas estimulan la síntesis y liberación de prostaglandinas, iniciando así la secuencia de la inflamación, quimio-atracción, infiltración, activación de neutrófilos y metaloproteinasas. Ocurre así un evento sinérgico, ya que las prostaglandinas ayudan a la maduración cervical, y además estimulan las contracciones, junto con las citocinas, mientras que las metaloproteinasas degradan las membranas produciendo consecuentemente la ruptura de las mismas.⁵

Con relación al mecanismo de apoptosis, en la ruptura de membranas, el TNF, IL1b, IL6, activan los genes vinculados a la muerte celular programada en el corion y amnios como el gen p53. Una vez que se han quebrantado las membranas ovulares y se genera el ascenso de los gérmenes del canal vaginal, al interior de la cavidad amniótica se produce la contaminación del líquido amniótico remanente, y el feto queda expuesto a la infección bacteriana mediante la deglución y/o aspiración del líquido amniótico contaminado. Por otro lado, muchas de las bacterias involucradas en el desarrollo de la infección coriodecidual tiene la capacidad de adherirse a la superficie de las células que conforman las membranas corioamnióticas, causando la infección de las mismas e induciendo una respuesta inflamatoria de severidad variable en estos tejidos, evidenciable mediante la infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) en tales tejidos⁶. Sin embargo, a pesar de ser este el mecanismo más común para el desarrollo de esta patología, también se ha descrito la infección corioamniótica por vía hematógena.

Con anterioridad a la RPM, las barreras físicas y químicas constituidas por las membranas intactas y el moco cervical, impiden el ingreso de bacterias a la cavidad amniótica. Por lo tanto, es raro ver una infección intraamniótica en pacientes con membranas intactas. Estas barreras determinan que el líquido amniótico sea estéril. Cuando se produce la ruptura de membranas, estas barreras se quebrantan. Una vez que esto ha sucedido, los microorganismos genitales pueden ingresar a la cavidad amniótica causando la infección intrauterina. Se admite la posibilidad de que pueda producirse una colonización bacteriana del líquido amniótico a pesar de que las membranas ovulares estén íntegras; esto puede dar origen a corioamnionitis, que tal vez sea capaz de desencadenar la ruptura de membranas o el inicio del trabajo de parto.⁷

La presencia de este síndrome clínico se relaciona con muchos otros factores, incluidos el tamaño del inóculo bacteriano, virulencia del microorganismo, respuesta del huésped, y

tiempo de evolución. Esto explica porque solo un tercio de las pacientes que sufren infección intraamniótica presenten el síndrome clínico.

Existen dos tipos de corioamnionitis, la clínica y la infección subclínica. Ambas pueden ser con membranas rotas o íntegras. En el 80 % de los casos, el curso de la corioamnionitis es subclínica, por lo que el diagnóstico se basará en la identificación de las complicaciones, que, con frecuencia, no se manifestarán hasta después del parto, cuando la madre presenta fiebre en el puerperio, irritabilidad uterina, o se obtiene un recién nacido fétido y con signos de infección. Por su parte, la corioamnionitis clínica se define como el proceso inflamatorio de las membranas corioamnióticas acompañada de signos y/o síntomas sugestivos de infección intrauterina; partiendo de ello, el diagnóstico de corioamnionitis clínica se realiza mediante los siguientes criterios establecidos por Gibbs en 1980: Temperatura axilar mayor o igual de 37, 8°C como signo principal (este criterio por si solo tiene una sensibilidad entre el 95 y el 100%) acompañado de 2 o más de los siguientes signos:

- Sensibilidad uterina anormal la cual puede estar presente solamente en el 25% o estar enmascarada por analgésicos o eventos propios del trabajo de parto ^{3, 8}
- Líquido amniótico purulento o fétido, el cual puede indicar infección avanzada. Su sensibilidad puede ser baja, alrededor del 5% ⁸
- Taquicardia materna mayor a 110 pulsaciones por minutos y fetal mayor a 160 pulsaciones por minuto con sensibilidad de 50 a 80% y 40 a 70 % respectivamente³, sin que la paciente haya recibido medicamentos que puedan aumentar la frecuencia cardiaca como efedrina, antihistamínicos y betabloqueantes.
- leucocitosis mayor de 15.000/mm y más de 10% de elementos inmaduros en el recuento diferencial ⁹, son otros parámetros que se deben tener en cuenta. Sin embargo, su sensibilidad es baja, por ejemplo, la leucocitosis tiene una especificidad de 95% para la predicción de corioamnionitis, pero la sensibilidad es de 6-29%.

Todos esos signos clínicos han sido evaluados y estandarizados por múltiples estudios, los cuales han aportado su valor estadístico y aunque el punto de corte para la fiebre materna varía a través de varios estudios, la literatura más reciente en general establece que para que sea más específica como signo debe ser una temperatura mayor de 38,0° C

Sin embargo, los síntomas descritos son inespecíficos, ya que pueden deberse a otros procesos patológicos y cuando el cuadro clínico ya se ha establecido, el riesgo de graves complicaciones neonatales se incrementa significativamente.

En función de ello se ha planteado que el parto pretérmino es la respuesta del feto ante un ambiente intrauterino que le está dañando. Es este sentido, numerosas investigaciones sobre el parto pretérmino y la RPM sugieren que durante el desarrollo de la infección intrauterina, el feto puede responder con la producción intrauterina de una serie de marcadores inflamatorios, tales como citocinas (interleucinas 1, 6, 8 y factor de necrosis tumoral), factor de activación plaquetario, metaloproteasas y elastasas, que producen

daño tisular fetal y que son los responsables, en definitiva, del síndrome de respuesta inflamatoria fetal (SRIF). Todos estos factores se elevan en el plasma del feto que desarrolla un SRIF, el cual puede afectar tanto a fetos pretérmino como a término, aunque estos últimos presentan un menor desarrollo de factores inflamatorios y morbilidad neonatal. Sin embargo, en un gran número de casos este cuadro es asintomático, fundamentándose su diagnóstico en la demostración de unos niveles de interleucina-6 superiores a 11 pg/ml en plasma fetal y su correlación histológica es la funiculitis y la corioamnionitis.

El concepto de SRIF sugiere que el proceso fisiopatológico que precede al desarrollo de complicaciones neonatales, tradicionalmente atribuidas a la prematuridad, puede tener su origen antes del parto y podría explicar la asociación entre la presencia de un proceso inflamatorio intrauterino y el desarrollo de sepsis neonatal, distrés respiratorio, displasia broncopulmonar y lesiones de la sustancia blanca cerebral entre otras complicaciones. Los signos y síntomas de infección o sepsis neonatal suelen ser sutiles y no fácilmente detectables, pueden confundirse con cuadros banales mientras evolucionan tórpidamente hacia una sepsis fulminante y esta a su vez ser secundaria a infección intrauterina o corioamnionitis. Así también se presentan complicaciones maternas asociadas a esta patología. Sin embargo, estas suelen ser limitadas por la resolución del embarazo en vista de la evacuación uterina del feto y anexos ovulares contaminados. A pesar de ello la complicación más frecuente es la endometritis puerperal y en el peor de los casos la sepsis materna. La infección neonatal puede conllevar consecuencias fatales, así como discapacidades a largo plazo, por lo que en la práctica diaria se busca prevenir estos desenlaces. La evidencia actual sugiere que no sólo la infección intraamniótica sino el diagnóstico de inflamación intraamniótica, independientemente del resultado del cultivo de líquido amniótico, está asociada a mayor tasa de prematuridad, de corioamnionitis clínica y mayor morbilidad neonatal en forma de test de Apgar más bajos, mayor porcentaje de admisión a Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales, distrés respiratorio neonatal, hemorragia intraventricular, bajo peso al nacer y morbilidad a largo plazo como la parálisis cerebral, alteraciones cognitivas y enfermedad crónica pulmonar

Ante la sospecha de corioamnionitis se debe de considerar la realización de: Biometría hemática con diferencial, determinación de velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva, Hemocultivo si existen datos de infección diseminada, y estudio del líquido amniótico (para estudio de leucocitos, glucosa, deshidrogenasa láctica, esterasa leucocitaria, y determinación de interleucinas, así como cultivo para gérmenes aerobios y anaerobios). La mayoría de estas pruebas tiene un valor predictivo positivo bajo (25-75%) y aún menos para predecir sepsis neonatal.

La amniocentesis es un método invasivo que tiene el potencial de detectar infecciones subclínicas antes de que se presenten datos clínicos maternos de corioamnionitis y antes del inicio de la sepsis fetal. Este método es utilizado para establecer un diagnóstico microbiológico de infección intra amniótica por determinación de marcadores bioquímicos y cultivo del líquido amniótico. Cuando el diagnóstico de corioamnionitis está basado en el cultivo-positivo del líquido amniótico, tiene una sensibilidad de 83-100% y una especificidad de 23 al 52%. Sin embargo, su utilidad clínica se limita a que el resultado definitivo puede tardar días, lo cual es un período muy largo para ser clínicamente útil. Además de que la amniocentesis de rutina no está recomendada en pacientes con ruptura

prematura de membranas pretérmino, incluso cuando se somete a la paciente ha dicho procedimiento invasivo, las mujeres en parto pretérmino frecuentemente cursan con inflamación intraamniótica, y hasta en 24% sin microorganismos detectables por cultivo. En estos casos, la infección intraamniótica, es evidenciada con elevación de los marcadores inflamatorios en líquido amniótico, IL-6 \geq 2.6 ng/mL.^{10, 11, 12}

El reporte histológico de corioamnionitis es el que aporta la certeza diagnóstica y se trata del estudio histológico de la placenta, membranas y cordón con evidencia de cambios inflamatorios agudos, basado en la coexistencia de leucocitos polimorfonucleares en la placenta y las membranas fetales.^{12, 13.}

Histológicamente existe una respuesta inflamatoria materna y fetal a la infección amniótica que progresa secuencial y predictivamente^{13.} La respuesta inicial es materna manifestada por la migración de los neutrófilos maternos desde el espacio intervelloso y los vasos en la decidua membranosa. Los neutrófilos se acumulan primero en la fibrina subcoriónica (subcorionitis aguda) y el trofoblasto coriónico membranoso (corionitis aguda temprana), migrando progresivamente a través de la capa de tejido conectivo del corión (corionitis aguda) y amnios (corioamnionitis aguda) y posteriormente al líquido amniótico en respuesta a factores quimiotácticos liberados por el agente infeccioso y/o reacción inflamatoria. Con el tiempo los neutrófilos sufren apoptosis y cariorexis seguida por necrosis epitelial amniótica (corioamnionitis necrotizante).

La primera manifestación de la reacción inflamatoria fetal es la migración de neutrófilos fetales en la vena umbilical (flebitis o funisitis umbilical) y/o vasos de la placa coriónica (vasculitis coriónica). En los estadios finales los neutrófilos fetales migran desde las arterias umbilicales (arteritis umbilical) y en la gelatina de Wharton. Se ha encontrado una mayor respuesta inflamatoria intraamniótica relacionada con la amnioitis, en comparación cuando sólo se ve afectado el corion.

Estos hallazgos histológicos se asocian a una respuesta inflamatoria fetal y resultados perinatales adversos, así como el grado y severidad.^{13.}

Biomarcadores en corioamnionitis

Los biomarcadores son parámetros que pueden ser utilizados para medir las interacciones entre el sistema biológico del huésped y un factor de riesgo ambiental que puede ser biológico, químico o físico. La infección intra amniótica inicia una cascada de procesos inflamatorios que reclutan inmunocitos en la cavidad uterina e induce la transcripción de citocinas, proteasas y otras enzimas, las cuales se han investigado como marcadores de corioamnionitis^{14, 15}

El diagnóstico precoz de la infección subclínica y la inflamación podría ayudar a los médicos a planear intervenciones para prevenir las complicaciones maternas y fetales de la corioamnionitis.¹⁶ Para ello, en los últimos años las investigaciones se han dirigido al uso de biomarcadores inflamatorios. Múltiples marcadores han sido estudiados, sin embargo, la predicción exacta de la infección sigue siendo un reto porque aún no se ha logrado identificar un marcador prenatal satisfactorio¹⁷

Las citoquinas, también denominadas Interleucinas (IL), son mediadores solubles, que permiten las interacciones entre las células del sistema inmune. Son péptidos y glucoproteínas de señalización intercelular que actúan de forma autocrina o paracrina, con un tiempo de vida media corta ¹⁸ aunque algunas tienen acción sistémica y se pueden asociar a eventos del embarazo. Las interleucinas son proteínas que pueden ser producidas por casi cualquier célula, pero básicamente las producen las células del sistema inmune. Pueden agruparse en proinflamatorias tales como la IL-6, IL-1, factor de necrosis tumoral alfa (FNT α), inmunomoduladoras como el Interferón gamma (INF γ), las quimiocinas como la IL-8 y existen además las inhibidoras como la IL-10 y el factor de crecimiento transformante beta (TGF β). Se ha constatado que estas proteínas están elevadas en el líquido amniótico de gestantes con dinámica uterina de origen idiopático, sugiriendo así la existencia de una infección subclínica. ¹⁹

Estas citoquinas son: interleucina 1 (IL-1), interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral alfa (FNT α), factor activador de plaquetas (FAP). Ellas estimulan directa e indirectamente la producción de prostaglandinas, leucotrienos y oxitocina en las membranas fetales y en la decidua, e inhiben el descenso plasmático de prostaglandinas, mejoran la producción de colagenasas intersticiales, lo que junto a la interleucina 8 conlleva al descenso de la matriz extracelular de las membranas fetales y el cérvix, también promueven la muerte de células amnióticas, activan la cascada del complemento, el cual dirige el ataque de los fagocitos y la cascada de la coagulación, todo esto lleva a daño endotelial y contracciones miométriales los que pueden promover el parto pretérmino. ²⁰

Incluso la inflamación sin infección puede causar parto pretérmino, esto es sustentado porque la infusión intra amniótica de interleucina 1 Beta a primates provoca contracciones uterinas. Existen evidencias que los embarazos sin signos de infección en el 3er. trimestre y los partos sin infección muestran niveles elevados de interleucina 1 y 8 en amnios, coriodecidua y miometrio lo cual también sustenta que las citoquinas están presentes en el parto aún en ausencia de infección. ²¹

IL-1: su bioactividad y concentraciones están elevadas en la amenaza de parto prematuro e infecciones intra amnióticas, así como con la rotura prematura de membranas, su administración en animales de experimentación (ratones y primates) induce parto pretérmino. ^{21, 22} La interleucina 1 elevada en fluidos con infección es a predominio de interleucina 1 Beta más que a interleucina 1 alfa y normalmente es indetectable en el líquido amniótico durante el 2do. trimestre de la gestación, pero se encuentra presente durante el 3er. trimestre.

IL-6: su bioactividad y concentraciones están elevadas en parto prematuro, infección uterina, rotura prematura de membranas y el inicio del trabajo de parto en líquido amniótico y en el plasma fetal. Es detectable en líquido amniótico durante los dos últimos trimestres de la gestación, pero sus niveles son bajos en embarazadas que no están en trabajo de parto, medios en aquellas que sí lo están y elevados en aquellas mujeres con infección intra amniótica. ²³

Su determinación identifica fetos en alto riesgo de morbilidad neonatal, ya que ha sido identificado como un marcador de sepsis neonatal precoz y concentraciones elevadas en

la sangre del cordón umbilical, son consideradas mediador de daño y marcador de riesgo de la leucomalacia en los prematuros.

La determinación de IL-6 en sangre del cordón umbilical 17.5 pg/ mL, tiene una especificidad de 74% y una especificidad de 74%, valor predictivo positivo mayor 46%, y valor predictivo negativo 90% para identificar funisitis. Su elevación en el líquido amniótico y sangre fetal se asocia a infección, parto pre termino, y síndrome de respuesta inflamatoria fetal.³

En general se ha demostrado que los niveles de IL-6 mayores de 11 pg/ mL y a menor edad gestacional, se correlaciona con morbilidad ^{24, 25, 26, 27}.

La determinación de niveles séricos maternos de interleucina-6 es un marcador no invasivo que ha demostrado elevarse en pacientes con ruptura prematura de membranas.

La elevación de las concentraciones de interleucina-6, en sangre materna ≥ 8 pg/ ml tiene una sensibilidad 81% y una especificidad de 99%, así como un valor predictivo positivo del 96% y un valor predictivo negativo 95% para detectar infección intrauterina en pacientes con ruptura prematura de membranas y corioamnionitis histológica. ^{28, 29, 30}

En un estudio realizado previamente en la unidad hubo una correlación significativa entre la presencia de corioamnionitis histológica y los valores de IL-6 con un punto de corte de 19.5 pg / dL para tener una sensibilidad del 68%, una especificidad del 88%, una razón de verosimilitud positiva de 5.4 y una razón de verosimilitud negativa de 0.3. ³¹

La determinación sérica de la elevación de estas citocinas que evidencian inflamación intra amniótica podría ser un factor pronóstico más fiable de efectos adversos neonatales. ^{32, 33}

IL-8: Es una quimiocina con actividad de quimiotaxis y activación de neutrófilos y linfocitos T. La IL-8 no estimula la producción de prostaglandinas por los tejidos intrauterinos, pero potencia los efectos proinflamatorios de las otras citoquinas. También se produce en amnios y corion en respuesta al LPS bacteriano y su concentración está elevada en los partos a término y en los prematuros con infección. ³⁴ Sus niveles elevados en suero materno han sido asociados a parto pretérmino y algunos autores la dan como una forma precisa de determinación de corioamnionitis. ²³

IL-10: es una citocina antiinflamatoria. Durante la infección, inhibe la actividad de las células Th1, las células NK y los macrófagos, todos los cuales son necesarios para la eliminación óptima del patógeno, pero también contribuyen al daño tisular. En consecuencia, IL-10 puede impedir el aclaramiento de patógenos y mejorar la inmunopatología. Muchos tipos diferentes de células pueden producir IL-10, variando la fuente principal de IL-10 en diferentes tejidos o durante etapas agudas o crónicas de la misma infección. Varios estudios han demostrado la influencia de la IL-10 en los mecanismos del trabajo en pretérmino y término, así como la respuesta inflamatoria intraamniótica del huésped durante el trabajo de parto prematuro con membranas intactas y rotas. En un estudio realizado en población mexicana en el que se estimuló selectivamente las membranas fetales con un patógeno común en la infección cervical-vaginal en humanos asociada con ruptura de membranas pretérmino, se estableció que

las secreciones basales de IL-10 por el tejido coriodecidual aumentaron significativamente, y en diferentes tejidos gestacionales, son capaces de inducir la biosíntesis y la secreción de prostaglandina E₂ (PGE₂) y PGF 2 α ; estos factores uterotónicos juegan un papel clave en el inicio y la progresión del parto.³⁵

Un modelo predictivo basado en la evaluación de IL-10 permitió una predicción notable de funisitis cuando el valor era superior a 93 pg/ml con una sensibilidad de 60% y una especificidad de 98.4%.³⁶

FNT α : también es producido por la decidua humana en respuesta a productos bacterianos; su nivel en el líquido amniótico es mayor en pacientes con amenaza de PP e infección intraamniótica que en pacientes con parto prematuro sin infección, estimula la producción de prostaglandinas por el amnios, decidua y corion y además tiene un efecto sinérgico con IL-1,3 sus niveles elevados en suero materno también han sido asociados a parto pretérmino y ha sido detectada en una concentración mayor en líquido amniótico de mujeres con infección y trabajo de parto prematuro²¹ Este no es detectable en líquido amniótico durante el 2do., ni el 3er. trimestre de la gestación en ausencia de infección.

Proteína C - reactiva (PCR) es un marcador inespecífico de los procesos inflamatorios; es producida por el hígado como una proteína de fase aguda¹⁴ se une a fosfocolina sobre los microbios para ayudar en la unión del complemento a las células dañadas o extrañas, actuando como una defensa temprana contra la infección. Este proceso, a su vez, promueve la mejora de la fagocitosis de los macrófagos³⁷

En casos de infección intrauterina, las citocinas producidas dentro de la cavidad uterina primero desarrollan una respuesta inflamatoria local y luego alcanzan la circulación materna y el hígado para estimular la síntesis de proteína C reactiva por hepatocitos o médula ósea para inducir leucocitosis³⁸

En gestantes con RPM, varios estudios han encontrado en la PCR una sensibilidad (S) que oscila desde 56 hasta 86% asociada a una especificidad (E) de 55 a 82% con un nivel de 20 mg/L para la predicción de corioamnionitis clínica. Cuando la PCR se realiza de forma reiterativa, un aumento de más del 30% en el seguimiento parece ser un marcador confiable de corioamnionitis clínica antes de las 34 semanas de gestación³⁹

Hasta el momento la determinación de PCR en sangre materna, es el marcador no invasivo, más específico para detectar infección temprana neonatal, cuando su concentración es \geq 5mg/L, con una sensibilidad 94%. También es un marcador sérico asociado a corioamnionitis clínica e histológica, sin embargo, sus valores predictivos para ambos son bajos.³⁸

La determinación sérica de la elevación de estas citocinas que evidencian inflamación intra amniótica podría ser un factor pronóstico más fiable de efectos adversos neonatales.^{32, 33}

El cultivo de líquido amniótico ya sea por amniocentesis o por vía vaginal en caso de membranas rotas ha sido aceptado como parte del estudio integral de la paciente con corioamnionitis, sin embargo, es de poca utilidad clínica a corto plazo. Cultivo de Líquido amniótico (LA) por medio de amniocentesis: teniendo la limitante que el reporte tarda mínimo 48 horas; por otro lado, un reporte negativo no excluye la presencia de

corioamnionitis, ya que no hay medios de cultivos apropiados para todos los gérmenes, aunado a que no identifica infecciones localizadas a decidua o corion .⁴⁰

El estudio histopatológico de las membranas o la placenta hasta el momento continúa siendo el estándar de oro en el diagnóstico de corioamnionitis, por lo que el médico puede apoyarse en este estudio ante su sospecha sin embargo está limitado por el hecho de que la patología placentaria no puede evaluarse antes del parto.⁴¹

Modelos de predicción

El objetivo principal de estos modelos es cuantificar la probabilidad de que ocurra el criterio de valoración (o episodio adverso), dados las condiciones o factores incluidos en el modelo, e idealmente reproducir estos resultados en poblaciones diferentes de la usada para su creación.

La bondad de los modelos predictivos es el poder seleccionar que pacientes con RPM tendrán mayor riesgo o no corioamnionitis no por el antecedente de ruptura, pero por otros biomarcadores (niveles séricos de IL-6, IL- 8, IL- 10, PCR y WBC) además de parámetros clínicos (temperatura, frecuencia cardiaca materna , frecuencia cardiaca fetal , tiempo de exposición de la RPM y edad gestacional al momento de la RPM). Esto es muy importante desde un punto de vista clínico ya que nos permitiría modificar el manejo de estas pacientes. Aquellas pacientes con bajo riesgo de corioamnionitis se beneficiarían posiblemente de prolongar el embarazo con ruptura y aquellas de alto riesgo se beneficiarían de antibioticoterapia y pruebas confirmatorias de infección. Aquellas pacientes sin ruptura de membranas no se benefician de un modelo predictivo de corioamnionitis por la baja prevalencia de esta patología en este grupo.

En este sentido previamente se han publicado modelos de análisis multivariantes como el planeado en este protocolo; El grupo del Dr. Ushijima en su estudio de 36 pacientes con ruptura prematura pretérmino de membranas, también buscó determinar un modelo predictivo de corioamnionitis basado en determinaciones de IL-6 y procalcitonina en líquido amniótico y cordón umbilical, donde concluyeron que la procalcitonina tenía un valor similar en la predicción de corioamnionitis histológica y resultados perinatales adversos relacionados con el estado inflamatorio del útero.⁴²

Con 20 casos de ruptura prematura pretérmino de membranas, el grupo del Dr. Jose Luis Bartha en el Hospital La Paz de Madrid, también ha realizado un modelo multivariante para predicción de corioamnionitis histológica en mujeres con ruptura prematura de membranas muy prematura utilizando IL18, IL2, IL4, IL6, IL10, IL,12, TNF-alpha, IFN-g y MMP-8, en el cual concluye que la concentración de interleucina 6 en líquido amniótico puede ser útil para el diagnóstico de corioamnionitis subclínica en estos casos.⁴³

Sin mencionar los múltiples estudios que ha realizado la Dra. Cobo en Hospital Clínic de Barcelona respecto a la predicción de corioamnionitis histológica en pacientes con ruptura prematura pretérmino de membranas en líquido amniótico^{36, 40}, siendo una línea de investigación actual.

JUSTIFICACIÓN

La corioamnionitis histológica ocurre en aproximadamente el 50-60% de las mujeres con ruptura prematura de membranas pretérmino. Se cree que esta afección contribuye a un nacimiento prematuro inminente y sepsis neonatal, enfermedad pulmonar crónica y lesión cerebral. El diagnóstico precoz y preciso de la corioamnionitis es importante, aunque está limitado por el hecho de que la patología placentaria no puede evaluarse antes del parto. Varios estudios han intentado identificar marcadores de diagnóstico rápidos altamente sensibles y específicos para diagnosticar corioamnionitis mediante el análisis de factores en el líquido amniótico obtenidos durante la amniocentesis, como la interleucina-6 (IL-6). Sin embargo, la amniocentesis es un procedimiento invasivo con los riesgos que conlleva, en consecuencia, se necesitan enfoques alternativo ruptura prematura de membranas pretérmino. Estudios previos han demostrado que la medición de los niveles de proteína C-reactiva (CRP), IL6, IL 8 o los recuentos de glóbulos blancos (WBC) en la sangre materna pueden ser técnicas no invasivas útiles para diagnosticar corioamnionitis histológica antes del nacimiento en mujeres con ruptura prematura de membranas pretérmino. También se ha informado que la edad gestacional en el momento de la ruptura y la paridad son factores de riesgo significativos para la corioamnionitis histológica, Sin embargo, ninguno de estos factores parece ser suficientemente sensible o específico de forma individual. Es por eso por lo que sea probable que la única forma de predecir mejor el desarrollo de la corioamnionitis histológica sea utilizar una combinación de diferentes marcadores.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La RPM se presenta entre el 2-3% de todos los embarazos, y está asociado con un 20% de todas las muertes perinatales. Las complicaciones más importantes relacionadas a la RPM son el parto pretérmino y la corioamnionitis.

La corioamnionitis ocurre en el 6% de los partos pretérmino sin RPM, pero se presenta en el 27% de los partos pretérmino con RPM, su frecuencia es directamente proporcional al período de latencia e inversamente proporcional a la edad gestacional y puede llevar a complicaciones materno- fetales, generando secuelas neurológicas en el feto como sepsis en madre e hijo, que en casos graves llevan a la muerte en ambos. Varios estudios han propuesto previamente diferentes marcadores inflamatorios solos o en combinación para predecir la invasión microbiana de la cavidad amniótica; sin embargo, pocos estudios han evaluado el papel de la inflamación intraamniótica en el diagnóstico de corioamnionitis histológica. La prevalencia de corioamnionitis histológica en partos prematuros y su asociación con inflamación intraamniótica justifican la necesidad de un modelo de predicción basado en marcadores inflamatorios intraamnióticos que podrían mejorar el manejo del embarazo y el asesoramiento parental de las mujeres en riesgo.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Tiene utilidad diagnóstica la determinación sérica de niveles de IL-6, IL- 8, IL- 10, PCR y WBC en pacientes con ruptura prematura de membranas pretérmino como marcadores bioquímicos no invasivos para diagnóstico temprano de corioamnionitis histológica?

OBJETIVOS

Objetivo general

Diseñar un modelo de predicción de corioamnionitis histológica basado en medición de biomarcadores inflamatorios en suero materno asociado a parámetros clínicos en pacientes con ruptura prematura-pretérmino de membranas

Objetivos particulares

- a) Determinar la prevalencia de corioamnionitis histológica en pacientes con ruptura prematura-pretérmino de membranas.
- b) Determinar las concentraciones séricas de los distintos biomarcadores (IL6, IL8, IL10, PCR, WBC) en pacientes con ruptura prematura-pretérmino de membranas.
- c) Determinar la asociación de las concentraciones séricas de los distintos biomarcadores (IL6, IL8, IL10, PCR, WBC) y los resultados anatómicos patológicos (corioamnionitis histológica) del estudio de la placenta en pacientes embarazadas 23-36.6 SDG por FUM con ruptura prematura de membranas.
- d) Crear un modelo de predicción que conjugue las características maternas y múltiples biomarcadores para predecir corioamnionitis histológica en pacientes con ruptura prematura-pretérmino de membranas.
- e) Determinar la edad gestacional promedio al momento de la ruptura de membranas.
- f) Determinar el tiempo promedio transcurrido desde la ruptura de membranas.

Objetivos secundarios

- a) Describir las características demográficas de la población estudiada (Antecedentes obstétricos y personales patológicos número de embarazos, partos previos, cesáreas previas, abortos previos, antecedente de infecciones urinarias, antecedente de cervicovaginitis, antecedente de hemorragia vaginal)

HIPÓTESIS

Hipótesis Nula: La asociación de los niveles séricos de IL-6, IL- 8, IL- 10, PCR y WBC en pacientes con RPM pretérmino y los parámetros clínicos de dichas pacientes (temperatura, frecuencia cardiaca materna, frecuencia cardiaca fetal , tiempo de exposición de la RPM y edad gestacional al momento de la RPM) no son marcadores útiles en el desarrollo de un modelo de predicción para el diagnóstico temprano de corioamnionitis histológica.

Hipótesis Alterna: La asociación de los niveles séricos de IL-6, IL- 8, IL- 10, PCR y WBC en pacientes con RPM pretérmino y los parámetros clínicos de dichas pacientes (temperatura, frecuencia cardiaca materna, frecuencia cardiaca fetal , tiempo de exposición de la RPM y edad gestacional al momento de la RPM) son marcadores útiles en el desarrollo de un modelo de predicción para el diagnóstico temprano de corioamnionitis histológica

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DE ESTUDIO Prueba diagnóstica.

Por la intervención: Observacional

Por la medición de variables de resultado: Transversal

Por el tiempo en que se produjo la información: Prospectivo

Por la interpretación de los resultados: Analítico

UNIVERSO DE TRABAJO

Pacientes embarazadas con ruptura prematura-pretérmino de membranas atendidas en el servicio de obstetricia de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco-Obstetricia No 3 "Dr. Víctor Manuel Espinosa De Los Reyes Sánchez" Centro Médico Nacional La Raza en un periodo comprendido de Diciembre de 2018 a Abril del 2018.

LUGAR O SITIO DEL ESTUDIO

Este estudio se realizó en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco-Obstetricia No 3 "Dr. Víctor Manuel Espinosa De Los Reyes Sánchez" Centro Médico Nacional La Raza. del Instituto Mexicano del Seguro Social en la ciudad de México,

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- Pacientes con embarazo único con diagnóstico de ruptura prematura-pretérmino de membranas que autoricen la participación.
- Feto vivo con una edad gestacional entre 23.0 a 36.6 semanas de gestación.
- Registro del resultado de histopatología para muestras de placenta en el momento del parto.

Criterios de Exclusión

- Resolución obstétrica fuera del hospital.
- Embarazo múltiple.
- Fetos con anomalías estructurales o cromosómicas.
- Madres con comorbilidades asociadas (Diabetes mellitus, hipertensión arterial, insuficiencia renal, enfermedades autoinmunes etc.).

Criterios de eliminación

- Registros incompletos de pacientes

MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de muestra fue calculado con la fórmula estadística para proporciones poblacionales $n = \frac{z^2(p \cdot q)}{e^2 + \frac{z^2(p \cdot q)}{N}}$ en la cual se estipuló un margen de error del 10% con un

nivel de confianza del 99%, basado en la proporción de pacientes con ruptura de membranas ajustada a los nacimientos por año en esta unidad (3% para 7,000 nacimientos), que dio un total de 210 mujeres con ruptura prematura-pretérmino de membranas. El tamaño necesario de muestra fue de 92 pacientes con ruptura para ser considerada representativa de la población general.

TIPO DE MUESTREO

No Aleatorio por Conveniencia

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE

NOMBRE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA
<i>Corioamnionitis histológica</i>	Infección del líquido amniótico, placenta y/o decidua.	<p>Leucocitosis polimorfonucleares, edema y congestión vascular en las paredes de la placa corial, cordón umbilical o amnios.</p> <p>Se establece con base en los criterios:</p> <p>Estadio 1: Presencia de neutrófilos sobre la placa coriónica.</p> <p>Estadio 2: Migración de neutrófilos dentro de la placa coriónica.</p> <p>Estadio 3: Los neutrófilos alcanzan el amnios.</p> <p>Grado 1: ≥ 5 neutrófilos X campo</p> <p>Grado 2: 11-30 neutrófilos</p> <p>Grado 3: ≥ 30 neutrófilos</p>	Cualitativa dicotómica	Si / No	χ^2 Para muestras independientes

VARIABLES INDEPENDIENTES

NOMBRE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA
Temperatura	Magnitud física que expresa el grado o nivel de calor de los cuerpos medida en °C	Cifra reportada de temperatura corporal máxima tomada con termómetro de mercurio en hojas de enfermería.	Cualitativa nominal	$\geq 38.0^{\circ}\text{C}$ $\leq 37.9^{\circ}\text{C}$	χ^2 Para muestras independientes
Frecuencia Cardíaca Materna	Número de contracciones cardiacas de la madre por unidad de tiempo	Cifra máxima reportada de latidos cardiacos por minuto en hojas de enfermería.	Cualitativa nominal	≥ 100 lpm ≤ 99 lpm	χ^2 Para muestras independientes
Frecuencia Cardíaca Fetal	Número de contracciones	Cifra máxima reportada de latidos cardiacos fetales por minuto en	Cualitativa nominal	≥ 160 lpm	χ^2 Para muestras independientes

	cardiacas del feto por unidad de tiempo	partograma.		≤159 lpm	independientes
Leucocitos	Células blancas e incoloras de La sangre y la linfa que puede trasladarse a diversos lugares del cuerpo con funciones defensivas	Se tomó una muestra de sangre periférica de 3 ml, la cual se conservó en red fría en reposo por 10 minutos, inmediatamente fue centrifugada a 3000 ciclos por 10 minutos y se analizó automáticamente en equipo Sysmex XN-1000™ y se tomó en cuenta la cifra máxima reportada.	Cualitativa nominal	≥15, 000 cel/mm3 ≤15, 000 cel/mm3	X ² Para muestras independientes
Concentración sérica de Interleucina-6, pg / ml	Glucoproteína secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, es una citocina con actividad proinflamatoria	Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, la cual se conservó en red fría en reposo por 10 minutos, inmediatamente fue centrifugada a 3000 ciclos por 10 minutos, y congeladas a -20 grados centígrados y se analizó de acuerdo al procedimiento para ELISA (ver anexo 3). Se analizó automáticamente en equipo Sysmex XN-1000™	Cuantitativa continua	Medición en pg/mL	t Student para muestras dependientes
Concentración de Interleucina-8 sérica pg/ml	Glucoproteína secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, es una citocina con actividad proinflamatoria.	Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, la cual se conservó en red fría en reposo por 10 minutos, inmediatamente fue centrifugada a 3000 ciclos por 10 minutos, y congeladas a -20 grados centígrados y se analizó de acuerdo al procedimiento para ELISA (ver anexo 3). Se analizó automáticamente en equipo Sysmex XN-1000™	Cuantitativa continua	Medición en pg/mL	t Student para muestras dependientes
Concentración de Interleucina-10 sérica pg/ml	Glucoproteína secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, es una citocina con actividad proinflamatoria.	Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, la cual se conservó en red fría en reposo por 10 minutos, inmediatamente fue centrifugada a 3000 ciclos por 10 minutos, y congeladas a -20 grados centígrados y se analizó de acuerdo al procedimiento para	Cuantitativa continua	Medición en pg/mL	t Student para muestras dependientes

		ELISA (ver anexo 3). Se analizó automáticamente en equipo Sysmex XN-1000™			
PCR	Marcador inespecífico de los procesos inflamatorios; producida por el hígado como una proteína de fase aguda	Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, la cual se conservó en red fría en reposo por 10 minutos, inmediatamente fue centrifugada a 3000 ciclos por 10 minutos, y congeladas a -20 grados centígrados y se analizó de acuerdo al procedimiento para ELISA (ver anexo 3). Se analizó automáticamente en equipo Sysmex XN-1000™	Cuantitativa continua	Medición en pg/mL	t Student para muestras dependientes
Edad gestacional al momento de la RPM	Cuantificación de semanas del feto ajustadas a la fecha de última regla confiable al momento de nacer.	Edad gestacional reportada en expediente clínico al momento de ingreso hospitalario.	Cuantitativa discreta	Semanas 23.0 36.6	t Student para muestras independientes
Tiempo de exposición de la RPM	Periodo de tiempo que ocurre desde la ruptura de membranas en horas hasta la resolución del embarazo.	Tiempo reportado de RPM reportado en expediente clínico hasta la resolución del embarazo.	Cuantitativa continua	Horas	t Student para muestras independientes

PROCEDIMIENTO

Las pacientes que ingresaron al servicio de admisión – urgencias con el diagnóstico de embarazo de 23 a 36.6 semanas de gestación por amenorrea confiable o USG del primer trimestre corregido y ruptura de membranas, fueron invitadas a participar. Aquellas que aceptaron participar y firmaron su consentimiento informado, fueron evaluadas durante su estancia en la unidad de toco cirugía o en hospitalización y una vez corroborada la ruptura prematura de membranas con las pruebas clínicas habituales, se tomó una muestra de sangre materna sérica de aproximadamente 5 ml, la cual fue enviada al laboratorio para centrifugar a 3000 rpm durante 10 min, para posterior extraer el suero y colocarlo en un vial para su almacenamiento en un refrigerador a -5°C hasta su proceso. Se llevó a cabo la determinación sérica de los niveles de IL-6, IL- 8, IL- 10, PCR y WBC por un solo QFB en el Laboratorio de Investigación y Toxicología del Hospital Infantil de México “Dr. Federico Gómez”, que estuvo cegado al estado clínico de las pacientes.

Posteriormente a la interrupción del embarazo, se conservó la placenta en formol, hasta su envío a patología con un tiempo máximo de las primeras 24 horas, se realizaron secciones de tejido de la placenta, el cordón umbilical y las membranas placentarias, se colocaron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina para su examen histológico estándar. El examen histopatológico fue realizado por un solo patólogo que estuvo cegado al estado clínico de las pacientes.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables se dividieron por grupos de acuerdo con el diagnóstico de corioamnionitis histológica. La distribución de las variables se analizó mediante prueba de Shapiro-Wilk y Shapiro-Francia. La prueba T se utilizó para analizar la media y la desviación estándar (DE) para variables continuas con distribución paramétrica, se utilizó la prueba de Wilcoxon de rangos para variables continuas con distribución no paramétrica, se usó la mediana y el rango intercuartílico, definido como la diferencia entre el percentil 75 y el percentil 25 para describir la dispersión de estas variables. La prueba de Chi cuadrado (Chi²) se usó para variables cualitativas, las cuales se expresaron como frecuencias y porcentajes. La prueba exacta de Fisher se utilizó cuando en alguna de las casillas, la proporción de eventos fue menor al 5%. La asociación entre el resultado primario (corioamnionitis histológica) y las variables independientes se evaluó mediante regresión logística por pasos, donde la comparación basal fue un modelo que comprendió las características clínicas maternas. Los modelos se compararon mediante la evaluación de la mejora en su Naegelkerke R² como una medida de bondad de ajuste (la proporción de incertidumbre explicada por el modelo). Se definió como una mejora relevante del rendimiento del modelo y un aumento de R² > 10% comparado mediante test de Wald (Chi²). El rendimiento predictivo para los modelos de resultado primarios fue valorado mediante el análisis de curva operativa del receptor (ROC) y comparado por el método De Long para el área total debajo de la curva (AUC). Los datos faltantes se imputaron mediante análisis de imputación múltiple hasta alcanzar 92 muestras. El análisis se realizará con STATA 15 para Mac OS X. El valor P <0.05 se consideró estadísticamente significativo.

PROCESAMIENTO DE DATOS

Se utilizó el paquete estadístico STATA v.14.2 para MAC (Texas, College Station). Y R statistics.

ASPECTOS ÉTICOS

El investigador garantiza que este estudio tuvo apego a la legislación y reglamentación de la Ley General de salud en materia de Investigación para la Salud, lo que brinda mayor protección a los sujetos del estudio.

De acuerdo con el de acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación el riesgo de esta investigación estuvo considerado como investigación con riesgo mínimo para mujeres embarazadas, con obtención de datos a través de toma de muestra sanguínea y datos obtenidos través del expediente clínico.

Los procedimientos de este estudio se apegaron a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación y se llevó a cabo en plena conformidad con los siguientes principios de la “Declaración de Helsinki” (y sus enmiendas en Tokio, Venecia, Hong Kong y Sudáfrica) donde el investigador garantiza que:

- a. Se realizó una búsqueda minuciosa de la literatura científica sobre el tema a realizar.
- b. Este protocolo fue realizado por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un equipo de médicos clínicamente competentes y certificados en su especialidad.
- c. Este protocolo guarda la confidencialidad de las personas. Todos los autores firmaron una carta de confidencialidad sobre el protocolo y sus resultados de manera que garantice reducir al mínimo el impacto del estudio sobre su integridad física y mental y su personalidad. Se preservó la confidencialidad de la información de las participantes, ni las bases de datos ni las hojas de recolección de datos contienen información que pudiera ayudar a identificarlas, dicha información fue conservada por el investigador responsable bajo llave.
- d. La publicación de los resultados de esta investigación preservará la exactitud de los resultados obtenidos, al difundir los resultados de ninguna manera se expondrá información que pudiera ayudar a identificar a las participantes.
- e. Cada participante fue informado suficientemente de los objetivos, métodos, beneficios y posibles riesgos y molestias que el estudio pudo acarrear.
- f. Se respetaron claramente los principios contenidos en el Código de Núremberg y el Informe Belmont.
- g. Balance riesgo-beneficio: El riesgo de esta investigación fue considerado como investigación riesgo mínimo para mujeres embarazadas, con obtención de datos a través de toma de muestra sanguínea y datos obtenidos del expediente clínico. Las participantes no obtuvieron algún beneficio, pero se espera beneficio para la sociedad al generar conocimiento al identificar marcadores no invasivos para la predicción de corioamnionitis histológica. Estas consideraciones justificaron el realizar el protocolo sin mayor riesgo para la paciente. El balance riesgo-beneficio fue adecuado.
- h. Modo de selección de los participantes. Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.
- i. Forma de otorgar los beneficios a las participantes: No aplica.

RESULTADOS

Antecedentes obstétricos de las pacientes estudiadas y características al ingreso a la unidad

Se incluyeron en el análisis 92 pacientes con diagnóstico de ruptura de membranas, la cual fue confirmada clínicamente. La edad materna de estas pacientes fue de 29.7 ± 6.84 años, mientras que el número de gestas totales fue de 2 por paciente (RIQ: 1.14). No se encontraron diferencias significativas entre aquellas mujeres que presentaron corioamnionitis histología vs. Aquellas que no presentaron este diagnóstico respecto a la edad, número de embarazos, historia de cervicovaginitis, historia de infección de vías urinarias, sangrado durante la gestación, trabajo de parto al ingreso hospitalario, líquido fétido a la exploración inicial, requerimiento de uteroinhibición, líquido amniótico a la ecografía de ingreso, requerimiento de inducción de trabajo de parto o periodo de latencia entre el ingreso y diagnóstico de corioamnionitis y el nacimiento del bebé.

De las pacientes con ruptura de membranas, el 24% (n=22) requirió uso de doble esquema de antibiótico al ingreso, encontrándose diferencia significativa entre aquellas que desarrollaron corioamnionitis vs. Controles (34% vs. 13%; p=0.020). Mientras que en la ecografía de ingreso, el peso fetal estimado fue de 2080 ± 752 grs, encontrándose un menor peso estimado en aquellas pacientes que subsecuentemente tuvieron un diagnóstico de corioamnionitis histológica (1836 vs. 2372; p<0.001). El análisis de las características generales de la población estudiada se encuentra en la tabla 1.

Tabla 1. Características de la población estudiada				
Característica	Total (N= 92)	Controles (n=45)	Corioamnionitis histológica (n= 47)	p-valor
Edad materna, media (DE) - años.	29.7 (6.84)	29.6 (6.99)	29.8 (6.77)	0.895
Gestas totales, media (DE) - n.	2.05 (1.14)	1.84 (0.98)	2.26 (1.26)	0.084
Múltiparas, n (%)	37 (40)	24 (53)	31 (66)	0.217
Historia de cervicovaginitis, n (%)	35 (38)	20 (44)	15 (32)	0.216
Historia de IVU, n (%)	68 (74)	31 (69)	37 (79)	0.283
Sangrado durante la gestación, n (%)	5 (5.4)	1 (2.2)	4 (8.5)	0.362
Trabajo de parto al ingreso, n (%)	42 (46)	18 (40)	24 (51)	0.287
Líquido fétido a la exploración, n (%)	5 (5.4)	0	5 (10.6)	0.056
Uteroinhibición, n (%)	2 (2.2)	0	2 (4.3)	0.495
Antibioticoterapia doble esquema, n (%)	22 (24)	6 (13)	16 (34)	0.020
Peso fetal estimado a la ecografía de ingreso, media (DE) - grs.	2098 (752)	2372 (765)	1836 (644)	<0.001
Índice de líquido amniótico, mediana (RIQ) - mL.	4 (3.5)	4 (3)	3 (3)	0.125
Inducción del parto, n (%)	25 (27)	16 (36)	9 (19)	0.077
Periodo de latencia, mediana (RIQ) - hrs.	7.1 (8.9)	8 (8.2)	6.2 (8.2)	0.093

Marcadores bioquímicos asociados a inflamación e infección en las pacientes estudiadas.

Se estudiaron múltiples marcadores asociados a inflamación e infección para determinar la posible asociación entre estos y el resultado de corioamnionitis histológica. De los marcadores séricos analizados, se encontraron diferencias significativas entre el conteo de leucocitos al ingreso, siendo significativamente mayor en el grupo que desarrolló corioamnionitis (14.6 vs. 10.7; $p < 0.001$ [Figura 1]), así como en el conteo de neutrófilos (11.9 vs. 8.12; $p < 0.001$ [Figura 2]) y plaquetas al ingreso (236 vs. 175; $p < 0.001$ [Figura 3]). La proporción de pacientes con bandas positivas no fue diferente entre el grupo con corioamnionitis vs. Controles.

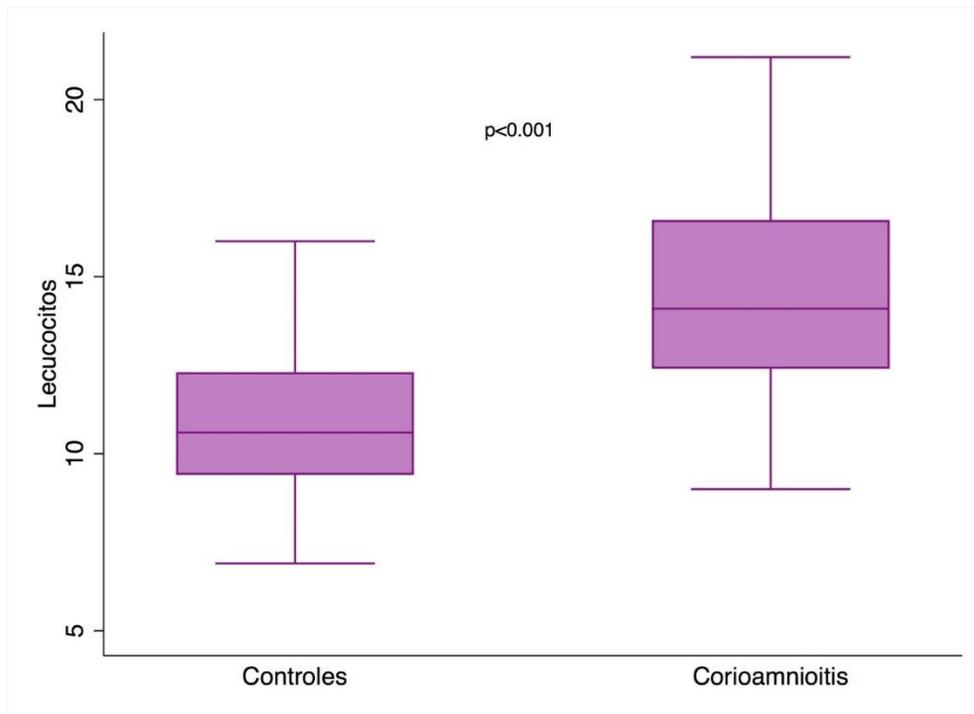


Figura 1. Comparación del conteo leucocitario entre aquellas pacientes que desarrollaron corioamnionitis vs. Controles.

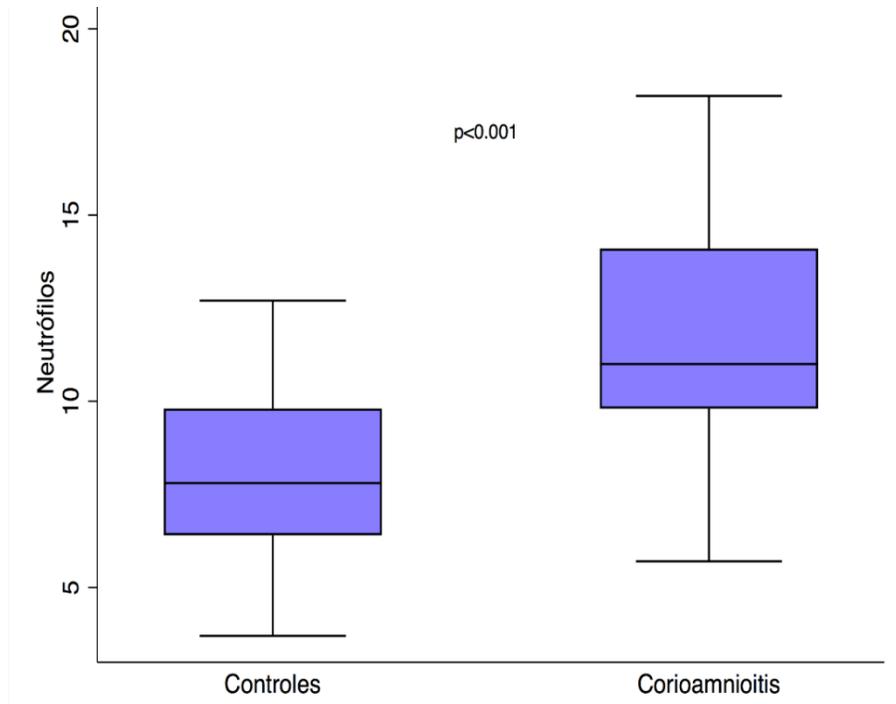


Figura 2. Comparación del conteo de neutrófilos entre aquellas pacientes que desarrollaron corioamnionitis vs. Controles.

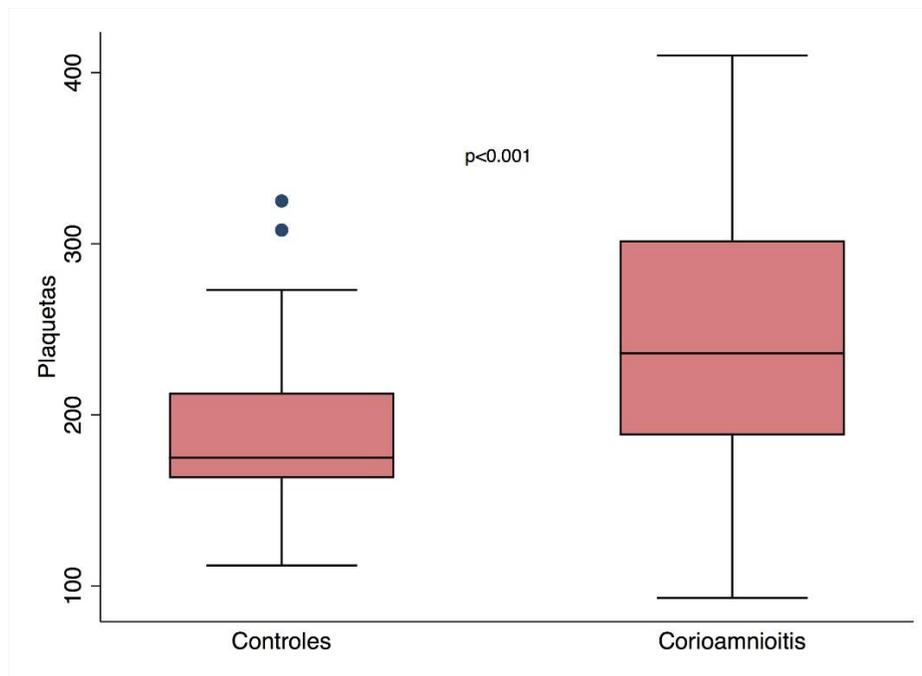


Figura 3. Comparación del conteo de plaquetas entre aquellas pacientes que desarrollaron corioamnionitis vs. Controles.

El resto de marcadores como lo son Proteína C reactiva, interleucina 6, interleucina 8 y 10, no mostraron diferencias significativas entre los grupos. El análisis global y por grupos de todos los marcadores estudiados, se muestra en la tabla 3. La figura 4 muestra las concentraciones globales de proteína C reactiva e interleucinas en la población estudiada.

Tabla 3. Resultados del análisis de suero materno				
Característica	Total (N= 92)	Controles (n=45)	Corioamnionitis histológica (n= 47)	p-valor
Leucocitos al ingreso, media (DE) - cels x campo.	12.7 (3.13)	10.7 (2.03)	14.6 (2.82)	<0.001
Neutrófilos al ingreso, media (DE) - cels x campo.	10 (3.22)	8.12 (2.29)	11.9 (2.91)	<0.001
Plaquetas al ingreso, mediana (RIQ) - mm3.	203 (90.5)	175 (50)	236 (114)	<0.001
Bandas positivas al ingreso, n (%)	1 (1.1)	0	1 (2.1)	1
Proteina C reactiva, mg/L, mediana (RIQ)	14.4 (8.5)	14.6 (8.4)	14.2 (8.7)	0.872
Interleucina 6, pg/mL, mediana (RIQ)	26.7 (14.6)	26 (15)	27.4 (14.3)	0.652
Interleucina 8, pg/mL, mediana (RIQ)	24.8 (13.4)	24.8 (13.2)	24.9 (13.8)	0.993
Interleucina 10, pg/mL, mediana (RIQ)	49.1 (28)	51.9 (28.5)	46.4 (27.2)	0.344

DE: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil; pg/mL: picogramos sobre mililitro; mg/L: miligramos sobre litro; mm3: milímetro cúbico.

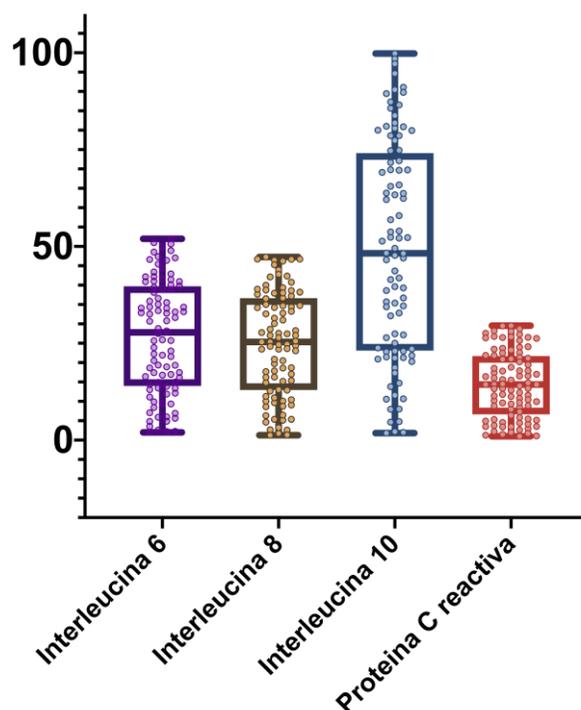


Figura 4. Concentraciones globales de los niveles séricos de proteína c reactiva e interleucinas.

Predicción de corioamnionitis histológica por características clínicas y marcadores

bioquímicos

La asociación entre el resultado de corioamnionitis histológica y los potenciales predictores se realizó mediante regresión logística. Se utilizó el método de regresión por pasos para determinar el grupo de características clínicas que, en conjunto, formarían el mejor modelo para predecir que pacientes desarrollarían corioamnionitis. A este modelo se le llamó modelo basal, pues está compuesto únicamente por características clínicas de las pacientes al ingreso hospitalario. Como un segundo paso, se realizó el mismo procedimiento de regresión por pasos para determinar cuál de los factores bioquímicos se asociaba significativamente al diagnóstico de corioamnionitis. Y como un paso final, mediante regresión logística anidada, se comparó la predicción de corioamnionitis del modelo basal agregando de manera individual los factores bioquímicos que fueron significativos mediante el paso número dos. El desempeño de los tres modelos se evaluó mediante el análisis de curva operativa del receptor y se comparó como el método de DeLong para determinar si había diferencias significativas entre las áreas bajo la curva de los modelos.

Predicción de corioamnionitis mediante modelo de características clínicas

Todas las características clínicas se introdujeron al modelo de regresión por pasos con un punto de corte de 1 y exclusión a partir de 0.05 para determinar si estas se quedaban en el modelo final. Las únicas dos características en el modelo final fueron la presencia de cavidad hipertérmica al parto con una razón de momios de 9.15 (IC 95%: 2.11-39.5; $p=0.003$), y el tener historia de cervicovaginitis (RM: 0.25; IC 95%: 0.08-0.84; $p=0.025$). Estas dos variables formaron el modelo basal el cual explicaba el 17.2% de la incertidumbre del resultado (corioamnionitis; R^2 : 0.172). Al realizar nuevamente la regresión por pasos en los marcadores bioquímicos, el conteo de leucocitos (RM: 1.95; IC 95%: 1.48-2.57; $p<0.001$) tuvo una asociación significativa. Al modelo basal que explicaba el 17.2% del resultado de presentar corioamnionitis se le adicionaron estos marcadores bioquímicos de manera individual y se valoró la diferencia al adicionar cada marcador con el modelo basal para determinar si mejoraba esto la predicción de corioamnionitis. La adición del conteo leucocitario al modelo basal clínico incrementó la predicción de corioamnionitis de 17.2% a 41.2%, lo cual fue significativo al compararlos mediante el test de Chi^2 ($p<0.001$). La tabla 4 muestra la comparación de los modelos de regresión logísticos anidados para la predicción de corioamnionitis.

Tabla 4. Regresiones logísticas anidadas para la predicción de corioamnionitis histológica en pacientes con ruptura prematura pretérmino de membranas

Resultado	R ² (chi2)	Parámetro	VARIABLES	OR	IC 95%		p
Corioamnionitis histológica	17.2%	Características clínicas	Cavidad hipertérmica	9.15	2.11	39.5	0.003
			Historia de cervicovaginitis	0.25	0.08	0.84	0.025
	41.2% (p<0.001)	Características clínicas + factores bioquímicos	Leucocitos	1.95	1.48	2.57	<0.001

Desempeño de los modelos logísticos para predicción de corioamnionitis mediante curva operativa del receptor y área bajo la curva

Se realizó mediante análisis operativo del receptor no paramétrico el desempeño de los tres modelos anidados para la predicción de corioamnionitis histológica. El modelo basal de características clínicas tuvo un área bajo la curva del 75.4%. El segundo modelo compuesto del modelo basal clínico y la adición del conteo leucocitario tuvo un área bajo la curva del 89.1%. Al comparar estos dos modelos mediante el método de DeLong, la diferencia fue significativa (p<0.001). La figura 5 presenta el análisis operativo del receptor y el área bajo la curva, así como la comparación de las áreas bajo la curva de los tres modelos anidados.

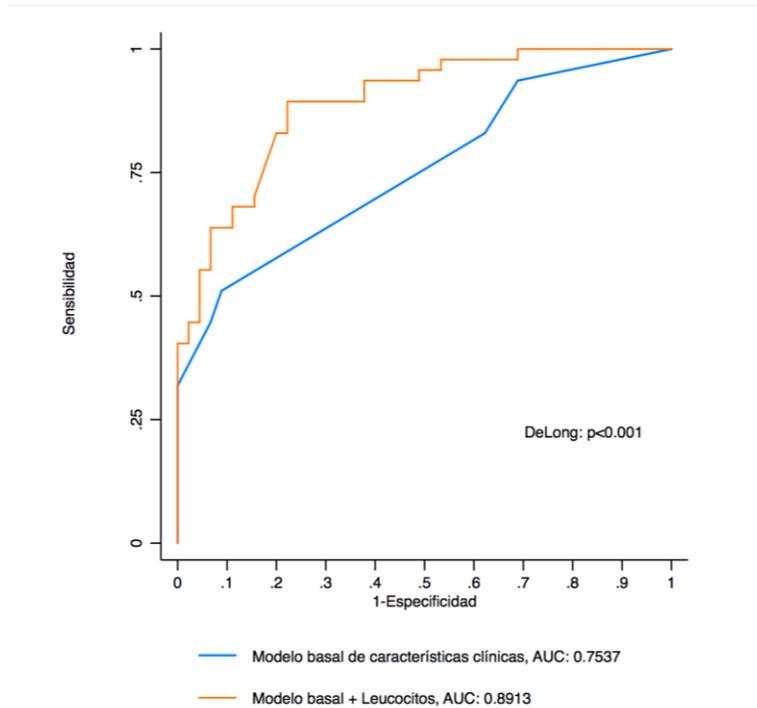


Figura 5. Curvas operativas del receptor para los tres modelos logísticos con sus respectivas áreas bajo la curva y la comparación entre estas áreas.

También se valoró el desempeño diagnóstico de las moléculas IL-6, IL-8, IL10 y PCR, de las cuales, el área bajo la curva fue pobre para la predicción de corioamnionitis histológica (51%, 56%, 57% y 52% respectivamente). La figura 6 muestra las curvas ROC y el área bajo la curva de estas moléculas.

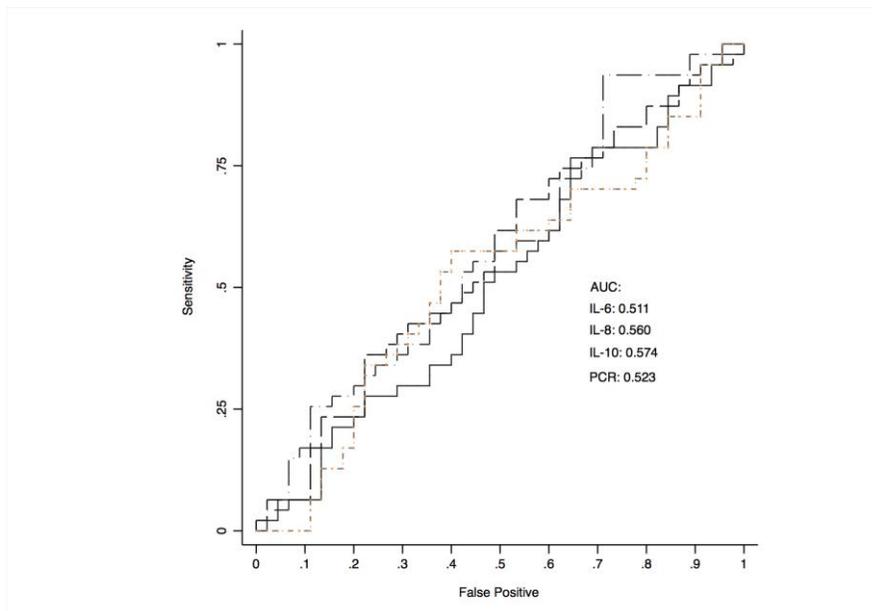


Figura 6. Curvas operativas del receptor y áreas bajo la curva de la medición de interleucina y proteína C reactiva para predicción de corioamnionitis histológica.

DISCUSIÓN

La infección intramniótica es considerada la causa conocida más frecuente de prematuridad, responsable de un 10-12% de los casos de parto pretérmino. Sin embargo, requiere para su diagnóstico del análisis del líquido amniótico y por tanto la realización de pruebas invasivas.

La corioamnionitis es una complicación frecuente de la ruptura prematura de membranas, asociada con resultados adversos a largo plazo, maternos y perinatales. Entre los maternos están: las infecciones postparto y sepsis. En los perinatales se incluyen: parto prematuro, sepsis neonatal, enfermedad pulmonar crónica y lesión cerebral que lleva a la parálisis cerebral.⁽⁵⁾

El riesgo de infección se eleva a menor edad gestacional al momento de la ruptura prematura de membranas y con la duración de la latencia.⁽⁴⁾

El diagnóstico de la corioamnionitis clínica supone la finalización de la gestación bajo cobertura antibiótica de amplio espectro. Sin embargo, la ventaja del diagnóstico de la inflamación intramniótica representa una etapa precoz de la invasión microbiana, por lo que su detección permitiría hipotéticamente iniciar un tratamiento antibiótico dirigido en una etapa temprana de la infección. Es por ello que la investigación actual se centra en la búsqueda de marcadores de inflamación intramniótica.

El diagnóstico de la corioamnionitis histológica se basa, sobre todo, en la coexistencia de leucocitos polimorfonucleares en la placenta y las membranas fetales.⁽⁶⁾ Mueller-Heubach y sus colaboradores estudiaron 1,800 placentas consecutivas en las que analizaron cortes estandarizados de la placa coriónica y encontraron corioamnionitis histológica en 18% de los partos de término y en 32% de los pretérmino. En otros estudios se encontró corioamnionitis en 15-80%.⁽⁷⁾

Los estudios de laboratorio que pueden orientar al diagnóstico de corioamnionitis clínica son: la biometría hemática, puede encontrarse leucocitosis materna (definida como más de 12,000 neutrófilos por mm³ o más de 15,000 leucocitos por mm³) o una bandemia izquierda (> 9). La leucocitosis se reporta en 70-80% de los casos de corioamnionitis clínica. Otros parámetros de laboratorio que incrementan el riesgo de corioamnionitis en ruptura prematura de membranas o parto pretérmino son: la proteína C reactiva, proteína fijadora de lipopolisacáridos, la molécula 1 soluble de adhesión intercelular (sICAM 1) y la interleucina 6 (IL-6).⁽⁵⁾

Como marcadores de inflamación intramniótica, los más estudiados han sido proteína C reactiva, las MMP, lipopolisacárido-proteína de unión y las interleucinas 6 y 8, se ha demostrado que la más sensible es la IL6, su principal inconveniente es su tasa de falsos positivos, del 17-34%, que limita su aplicabilidad clínica ya que puede derivar en la finalización de gestaciones no infectadas en edades gestacionales muy tempranas.

En nuestro estudio demostramos que la prevalencia de infección intramniótica en pacientes con parto pretérmino es similar a la reportada en la literatura 15-80%.⁽⁷⁾

De acuerdo con la literatura , La elevación de las concentraciones de interleucina -6 , en sangre materna ≥ 8 pg/ ml tiene una sensibilidad 81% y una especificidad de 99% , así como un valor predictivo positivo del 96% y un valor predictivo negativo 95% para detectar infección intrauterina en pacientes con ruptura prematura de membranas y corioamnionitis histológica; sin embargo en nuestro estudio encontramos una relación que el área bajo la curva fue pobre para la predicción de corioamnionitis histológica (51%, 56%, 57% y 52% respectivamente). El recuento de leucocitos séricos maternos con punto de corte 15000/mm³ o menor y el recuento absoluto de neutrófilos séricos maternos mayores a 10865/mm³ tienen sensibilidad y especificidad bajas.

Se realizó mediante análisis operativo del receptor no paramétrico el desempeño de los tres modelos anidados para la predicción de corioamnionitis histológica. El modelo basal de características clínicas tuvo un área bajo la curva del 75.4%. El segundo modelo compuesto del modelo basal clínico y la adición del conteo leucocitario tuvo un área bajo la curva del 89.1%. Al comparar estos dos modelos mediante el método de DeLong, la diferencia fue significativa ($p < 0.001$).

CONCLUSIONES

El proceso de inflamación intraamniótica es un proceso variable con diferentes grados de severidad. Entre las pacientes con riesgo de infección intraamniótica, esto es, rotura prematura de membrana se desarrolló infección intraamniótica en la mayoría de los casos, un 51% de los casos reportados en nuestra serie.

La determinación de marcadores bioquímicos como son la cuenta leucocitaria en suero materno tiene un alto valor estadísticamente significativo para la detección de corioamnionitis histológica en pacientes con factores de riesgo. El resto de los marcadores como lo son Proteína C reactiva, interleucina 6, interleucina 8 y 10, no mostraron diferencias significativas entre los grupos.

El modelo basal de características clínicas tuvo un área bajo la curva del 75.4%. El segundo modelo compuesto del modelo basal clínico y la adición del conteo leucocitario tuvo un área bajo la curva del 89.1%. Al comparar estos dos modelos mediante el método de DeLong, la diferencia fue significativa ($p < 0.001$).

En un futuro, puede que sea la combinación de citoquinas inflamatorias, y no la determinación de un marcador bioquímico aislado lo que nos lleve a una identificación de los diferentes grados de inflamación histológica en el contexto de una infección intraamniótica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American College of Obstetricians and Gynecologist. Practice Bulletin, Premature Rupture of Membranes. *Obstet & Gynecol.* 2016; 127 : 39-44
2. Rivera R, Caba F, Smirnow M, Aguilera J, Larrain A. Fisiopatología de la rotura prematura de membranas ovulares en embarazos pretérmino. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2004; 69: 249-55.
3. Tita A, Andrews W. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clin Perinatol.* 2010; 37: 339-354
4. Fishman Sg, Gelber Sh. Evidence for the clinical management of chorioamnionitis. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17:46-50
5. López F, Ordoñez S, Alexander S. Ruptura prematura de membranas fetales: de la fisiopatología hacia los marcadores tempranos de la enfermedad. *Revi Colomb Obstet Ginecol.* 2006; 57: 279 – 90.
6. Martius E; Eschenbach A. The role of bacterial vaginosis as a cause of amniotic fluid infection chorioamnionitis and prematurity. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 247:1-13.
7. Combs C.A, Gravett M., Garite J.T, Hickok E.D, Lapidus J, Porreco R.,et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 210:125.e1-125.e15
8. Shira F, Shari G. Evidence for the clinical management of chorioamnionitis. *Seminars in fetal & neonatal medicine.* 2012;17: 46-50.
9. Argilagos G, Araño J, Pérez M, Morando D, Hierrezuelo G. Factores de riesgo en la corioamnionitis. vol.15 no.5 *MEDISAN* 2011; 15:643.
10. Gyamfi-Bannerman G, Moeun S. Preterm premature rupture of membranes and the rate of neonatal sepsis after two courses of antenatal corticosteroids. *Obstet & Gynecol,* 2014; 124: 999-1003
11. Chaur-Dong H, Pavlik JA, Jian-Hwa W. Interleukin-18 and Fas/Fas ligand system in preterm labor with intraamniotic infection. *Obstet & Gynecol.* 2002, 99: 18 s
12. Romero R, Chainstitching P, Korzeniewski, S.J, Tarca L.A, Bhatti G, Zhonghui Xu et al. Clinical chorioamnionitis at term II: the intra-amniotic inflammatory response. *Journal of Perinatal Medicine.* 2015. 44:5-22
13. Kim CJ, Romero R, Chaemsathong P. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol* 2015, 213: S53-69.
14. Menon R, Taylor R, Fortunato S. Chorioamnionitis a complex pathophysiologic syndrome. *Placenta.* 2010. 31, 113-120.
15. Goldenberg R, Hauth J, Andrews W. Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *N Engl J Med* 2000; 342:1500-1507.
16. Genc MR, Ford CE. The clinical use of inflammatory markers during pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010; 22 :116-21.
17. Popowski T, Goffinet F, Maillard F, Schmitz T, Leroy S, Kayem G.. Maternal markers for detecting early-onset neonatal infection Popowski T, Goffinet F, Maillard F, Schmitz T, Leroy S, Kayem G.. Maternal markers for detecting early-onset neonatal infection and chorioamnionitis in cases of rupture of membranes at or after 34 weeks of gestation: a two-center prospective study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2011;11:26.
18. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Citoquinas. Capt 10. En: Parslow Tristram G, Stite Daniel P. *Inmunología Básica y Clínica,* 10ma. ed. México DF: Editorial El Manual Moderno. S.A; 2002. p.167.

19. Álvarez de la Rosa Rodríguez M. Implicación de las Interleuquinas maternas en el parto pretérmino idiopático. (TTR de Obstetricia y Ginecología). Madrid: Universidad autónoma de Madrid; 1997: 37:562-576
20. Hasbun HJ, Hasbun NA. Infección y parto prematuro: Enlace epidemiológico y bioquímico. *Rev Chil Infect.* 2000;17: 7-17
21. Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchell BF, Olson DM. Inflammatory processes in preterm and term parturition. Review article. *J Reprod Immunol.* 2008; 79:50-57.
22. Vogel I, Goepfert AR, Thorsen P, Skogstrand K, Hougaard DM, Curry AH, et al. Early second-trimester inflammatory markers and short cervical length and the risk of recurrent preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2007; 75:133-140.
23. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T. Cytokine production in chorioamnionitis. Review. *J Reprod Immunol.* 2000; 47:185-196.
24. Chaemsathong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A. A rapid interleukin-6 bedside test for the identification of intra amniotic inflammation in preterm labor with intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29: 349-359.
25. Zhang W, Wang L, Zhao Y, Kang, J. "Changes in cytokine (IL-8, IL-6 and TNF-alpha) levels in the amniotic fluid and maternal serum in patients with premature rupture of the membranes". *Gynecol* 2014; 210:1-15.
26. Bhandari V. Effective Biomarkers for diagnostic of neonatal sepsis. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2014; 3: 234-245
27. Romero R, Emamian M, Quintero R, Wan M, Hobbins JC, Mazor M, Edberg S. The value and limitations of the gram stain examination in the diagnosis of the intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1988; 159:114-9.
28. Murtha AP, Greig PC. Maternal serum interleukin-6 concentrations in patients with preterm premature rupture of membranes and evidence of infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175: 966-969.
29. Chau A, Markley JC, Jaung J. Cytokines in the perinatal period. *Int J Obstet Anesth* 2016; 5: S0959-289.
30. Simpson J.R: Hammacher A, Smith K.D, Jacqueline M. Matthews and Larry D. Ward. Interleukin-6: Structure-function relationships. *Protein Science.* 1997; 6: 929–955,
31. Martinez RJ. Hawkins A. Maternal Serum Interleukin-6: A Non-Invasive Predictor of Histological Chorioamnionitis in Women with Preterm-Prelabor Rupture of Membranes, *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2018;45:168-175.
32. Lee SY, Buhimschi IA, Dulay AT, Ali UA, Zhao G, Abdel-Razeq SS, Bahtiyar MO, Thung SF, Funai EF, Buhimschi CS. Interleukin-6 *trans*-signaling system in intraamniotic inflammation, preterm birth and preterm premature rupture of the membranes. *J Immunol.* 2011; 186:3226-36.
33. Seo K, McGregor JA, French JI. Preterm Birth is associated with increased risk of maternal and neonatal infection. *Obstet Gynecol.* 1992; 79:75-80
34. Yoneda S, Sakai M, Sasaki Y, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S. Interleukin-8 and glucose in amniotic fluid, fetal fibronectin in vaginal secretions and preterm labor index based on clinical variables are optimal predictive markers for preterm delivery in patients with intact membranes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007; 33: 38-44
35. Zaga-Clavellina V, In vitro secretion profiles of interleukin (IL)-1beta, IL-6, IL-8, IL-10, and TNF alpha after selective infection with *Escherichia coli* in human fetal membranes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007; 5: 46-48

36. Cobo T. A prediction model of histological chorioamnionitis and funisitis in preterm prelabor rupture of membranes: analyses of multiple proteins in the amniotic fluid. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2012; 25:1995-2001
37. Smith E, Muller C, Sartorius JA, White DR, Maslow AS. C-Reactive Protein as a Predictor of Chorioamnionitis. *JAOA* 2012; 112: 660-664.
38. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF: Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: a systematic review. *BJOG* 2007; 114: 796–801
39. Popowski T, Goffinet F, Batteux F, Maillard F, Kayem G. Prediction of maternofetal infection in preterm premature rupture of membranes: Serum maternal markers. *Gynecologie Obstetrique & Fertilité*.2011;39 :302-308.
40. Cobo T, Tsiartas P, Kacerovsky M. Maternal inflammatory response to microbial invasion of the amniotic cavity: analyses of multiple proteins in the maternal serum. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2013; 92: 61–68.
41. Guía de Práctica Clínica Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Corioamnionitis en los Tres niveles de Atención. México: Secretaría de Salud, 2013

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN CORIOAMNIONITIS HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON RUPTURA
PREMATURA-PRETÉRMINO DE MEMBRANAS

ACTIVIDAD	FECHAS PROGRAMADO	FECHAS REALIZADO
Elaboración del protocolo:	Mayo- Septiembre 2018	Mayo – Septiembre 2018
Registro del protocolo:	Noviembre- Diciembre 2018	Diciembre 2018
Selección de pacientes:	Diciembre- Julio 2019	Diciembre 2018- Marzo 2019
Colección de información:	Diciembre- Julio 2019	Marzo- Mayo 2019
Captura de datos:	Diciembre- Julio 2019	Mayo- Junio 2019
Análisis de datos:	Agosto 2019	Junio 2019
Interpretación de resultados:	Agosto 2019	Junio 2019
Formulación de reporte:	Agosto 2019	Junio- Julio 2019

ANEXOS

ANEXO 1 Consentimiento informado



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
(ADULTOS)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN CORIOAMNIONITIS HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA-PRETÉRMINO DE MEMBRANAS

Lugar, Fecha y hora: _____ **Número de Registro:** _____

Justificación y Objetivo del estudio: Un problema importante de salud en las mujeres embarazadas es que se rompa la fuente. Una complicación de esto es la infección que puede tener efectos en la madre y en el bebé. La única forma de saber si está infectado o no es obteniendo una muestra de líquido amniótico, misma que se cultiva para ver si no existe infección en él. La muestra de líquido amniótico se obtiene colocando una aguja en el abdomen materno y aspirando. Las complicaciones del piquete pueden terminar en la pérdida del bebé, por lo que no se hace habitualmente. El objetivo de este estudio es buscar algunas sustancias (marcadores indirectos) en la sangre de mamá, que puedan indicarnos infección dentro de útero y del bebe con procedimientos menos invasivos, y que indiquen la resolución inmediata del embarazo.

Procedimientos Todas las pacientes con ruptura de membranas, serán invitadas a participar. Se les tomará una muestra de 5ml de sangre del brazo (aproximadamente 1 cucharadita) y se enviará a laboratorio para su análisis. Este embarazo se continuaría siguiendo las normas nacionales e internacionales, y al nacimiento la placenta será estudiada por el servicio de patología, quien nos dirá si existían datos de infección

Posibles riesgos y molestias: El riesgo considerado por la Ley General de Salud es mínimo. La toma de sangre del brazo puede ocasionar dolor leve y un moretón. En raras ocasiones es posible que se requiera tomar la muestra dos veces.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: Las participantes no recibirán beneficio alguno directo, sin embargo su participación será valiosa para poder tomar acciones de tratamiento a futuro en otras mujeres que se encuentren en la misma situación.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento: Consideramos al terminar el estudio difundir nuestros resultados con las pacientes mediante correo electrónico.

Participación o retiro: Se asegura la explicación amplia del estudio y la respuesta a cualquier duda de la participante, así como la libertad de decidir no participar o retirar el consentimiento y abandonar el estudio en cualquier momento sin afectar la atención establecida por su médico.

Beneficios al término del estudio: Los beneficios más importantes de este estudio serán permitir a futuro la identificación adecuada de las pacientes que tienen infección intrauterina y que requiere se resuelva el embarazo inmediatamente para evitar complicaciones graves en la madre y el bebe.

Privacidad y confidencialidad: Los investigadores se comprometen a respetar la confidencialidad de los datos personales y de la información obtenida de la paciente y su recién nacido. En todo momento se preservará la confidencialidad de la información de las participantes. Ni las bases de datos ni las hojas de recolección contendrán información que pudiera ayudar a identificarlas, dicha información será conservada en registro aparte por el investigador responsable bajo llave.

Las muestras de sangre obtenidas serán transportadas para su análisis y serán mantenidas en refrigeración durante el periodo en el que se desarrollara el estudio, posteriormente se desecharán siguiendo las normas para desechos biológico infecciosos, las muestras de la placenta permanecerán resguardadas en el departamento de Anatomía Patológica del hospital de acuerdo a sus lineamientos.

- No autoriza que se tome la muestra.
 Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:
Investigador responsable: Dra. María Nallely Moreno Uribe, Matrícula 98368188, Médico adscrito al servicio de Medicina Materno Fetal, Teléfono 5724 5900 extensión 23819

Colaboradores: Dra. Martha Angelica Mejía Ugarte Médico residente de tercer año de ginecología y obstetricia. Teléfono 5724 5900 extensión 23819 Teléfono celular (722)5691383. Dra. Analilia Sandoval Mejía Jefe del departamento de Anatomía Patológica Tel. 57245900, Ext. 23710. QFB. Rodrigo Romero Nava adscrito al Laboratorio de Investigación y Toxicología. Teléfono celular (555)2289917

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Col. Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comiteeticainv.imss@gmail.com

Nombre y firma de la paciente

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1 Nombre, dirección, relación y firma

Testigo 2 Nombre, dirección, relación y firma

ANEXO 2. Instrumento de recolección de datos.

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS
BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN CORIOAMNIONITIS HISTOLÓGICA EN
PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA-PRETÉRMINO DE MEMBRANAS

Folio de registro				
Edad				
Semanas de gestación por FUM				
Antec. RPM embarazos previos		SI		NO
Gestas		P	A	C
Tiempo de RPM		Horas		
Frecuencia cardíaca materna		≥100 lpm		≤99 lpm
Temperatura materna		≥38 °C		≤37.9°C
Frecuencia cardiaca fetal		≥ 160 lpm		≤ 160 lpm
Corioamnionitis		SI		NO
IL 6		pg/ml		
IL 8		pg/ml		
IL 12		pg/ml		
PCR		mg/dL		
WBC		cél/ mm ³		

ANEXO 3. Procedimiento para ELISA

1. Se diluye 1.5 ng/ ml a cero. Inmediatamente se agregan 100 μ l del suero a cada pozo, por triplicado. Se incuba a temperatura ambiente al menos por 2 horas.
2. Se debe aspirar y lavar los pozos al menos 4 veces.
3. Diluir 5.5 μ l de avidin-HRP conjugado a 1:2000 para un volumen total de 11ml. Agregar 100 μ l por pozo. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
Se debe aspirar y lavar los pozos al menos 4 veces. Posteriormente agregar 100 μ l por pozo de ABTS Liquid Substrate, incubar a temperatura ambiente para la colorimetría la que se desarrolla con un lector para ELISA A 405 nm con corrección de longitud de onda a at 650 nm .

ANEXO 4. Carta de confidencialidad

Ciudad de México. a 05 de mayo del 2018

CARTA DE CONFIDENCIALIDAD

La C. Maria Nallely Moreno Uribe investigador responsable de la tesis del proyecto Biomarcadores no invasivos para la predicción corioamnionitis histológica en pacientes con ruptura prematura-pretérmino de membranas, me comprometo a resguardar, mantener la confidencialidad y no hacer mal uso de los documentos, expedientes, reportes, estudios, actas, resoluciones, oficios, correspondencia, acuerdos, directivas, directrices, circulares, contratos, convenios, instructivos, notas, memorandos, archivos físicos y/o electrónicos, estadísticas o bien, cualquier otro registro o información que documente el ejercicio de las facultades para la evaluación de los protocolos de investigación, a que tenga acceso en mi carácter investigador, así como a no difundir, distribuir o comercializar con los datos personales contenidos en los sistemas de información, desarrollados en el ejercicio de mis funciones como investigador.

Estando en conocimiento de que en caso de no dar cumplimiento se estará acorde a la sanciones civiles, penales o administrativas que procedan de conformidad con lo dispuesto en la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública Gubernamental, la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares y el Código Penal de la Ciudad de México, a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, y demás disposiciones aplicables en la materia.

Acepto

Dra. María Nallely Moreno Uribe

Nombre y Firma

ANEXO 5 Carta de anuencia con implicaciones de bioseguridad

CARTA DE ANUENCIA CON IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD

Quien suscribe, Dra. Nallely Moreno Uribe con número de matrícula 98368188, adscrita al servicio de Perinatología y profesor titular de la subespecialidad de Medicina Materno Fetal en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco-Obstetricia No 3 "Dr. Víctor Manuel Espinosa De Los Reyes Sánchez" Centro Médico Nacional La Raza, hace constar que el protocolo titulado BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA LA PREDICCIÓN DE CORIOAMNIONITIS HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA-PRÉTERMINO DE MEMBRANAS del cual es responsable, **TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD** debido a que se trabajará con:

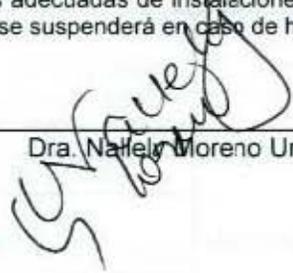
- (X) Material biológico infecto-contagioso: muestras de sangre periférica y muestras de tejido placentario
(NA) Cepas patógenas de bacterias o parásitos
(NA) Virus
(NA) Material radiactivo
(NA) Animales y/o células y/o vegetales genéticamente modificados
(NA) Sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas
(NA) Material que puede poner en riesgo la salud o la integridad física del personal de salud o los derechohabientes del IMSS o afectar al medio ambiente
(NA) Animales (de laboratorio, granja o vida silvestre)
(NA) Trasplante de células, tejidos u órganos
(NA) Terapia celular

Asimismo, declara que conoce, ha leído y cumplirá las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que aplican al proyecto:

- Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002 sobre el manejo de RPBI
- Manual de procedimientos para el manejo de sustancias CRETI y RPBI (Instituto Nacional de Salud Pública Comisión de Bioseguridad)
- NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Modificación D.O.F. 23/06/2006
- Proyecto de NOM-037-SSA3-2013, para la organización y funcionamiento de los Laboratorios de anatomía patológica, D.O.F. 03/09/2014.
- Manual de Bioseguridad en el laboratorio. Tercera edición Organización Mundial de la Salud, 2005

También manifiesta que existe evidencia documental **auditable** de que:

- Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encuentran en estado satisfactorio de operación y son adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- El equipo a utilizar se encuentra en estado satisfactorio de operación.
- Existen dispositivos personales de protección que se encuentran en estado satisfactorio de operación.
- Los involucrados en el proyecto, incluyendo a los estudiantes que participen en el mismo, han recibido la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.
- Se mantendrán las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto y que el protocolo se suspenderá en caso de haber alguna irregularidad.



Dra. Nallely Moreno Uribe

ANEXO 6: Bioseguridad

Todas las muestras serán consideradas potencialmente infecciosas, por lo que se seguirán las medidas de prevención de riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos, así como las recomendaciones del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (Ginebra, 2005).

El procedimiento para la toma de muestra sanguínea está descrito por la OMS/SIGN en la Carpeta de material sobre seguridad de las inyecciones y los procedimientos conexos el cual se describe a continuación:

1. Reúna el material necesario e incluya la jeringa y la aguja hipodérmica o el tubo al vacío.
- 2.- Proceda a la higiene de manos
- 3.- Identifique y prepare al paciente
- 4.- Identifique el lugar a puncionar, en la region antecubital.
- 5.- Aplicar un torniquete 4 o 5 dedos de distancia por encima de la zona de venopunción elegida.
- 6.- Ponerse un par de guantes no esteriles.
- 7.- Desinfectar la zona con alcohol isopropilico durante 30 segundos y dejar secar.
- 8.- sujetar la vena sosteniendo el brazo del paciente con el pulgar colocado por debajo del lugar de la punción venosa.
- 9.- Introducir la aguja en la vena en un angulo de 30°
- 10.- Una vez extraida la cantidad de sangre suficiente , aflojar el torniquete antes de retirar la aguja.
- 11.- Retirar la aguja con delicadeza y luego ofrezca al paciente una torunda con alcohol.
- 12.- Deseche la jeringa y la aguja utilizada dentro de un contenedor para punzocortantes.
- 13.- Marque la etiqueta y registre la informacion en los formatos para que contengan los datos correctos.
- 14.- Quitese los guantes y pongalos en el recipiente para desechos generales. Proceda a la higiene de las manos.

Se obtendrá la sangre total por venopunción en tubos de polipropileno tipo “vacutainer” sin anticoagulante, una vez tomada la muestra, se dejará reposar en una gradilla a temperatura ambiente y después se dejará el tubo en refrigeración (2 a 8 °C) durante dos horas para permitir la retracción del coágulo. Posteriormente se centrifugará a 3,000 r.p.m durante 10 min para obtener el suero.

Para el embalaje de las muestras se utilizará el sistema triple básico, se colocara la muestra en un recipiente primario, a prueba de filtraciones, el cual estará etiquetado debidamente, este se colocara en un recipiente secundario el cual contendrá refrigerantes para conservación de la muestra; este recipiente a su vez se incluirá en un paquete externo de envío.

Se trasladarán al Hospital Infantil de México Federico Gómez vía terrestre por la Dra. Martha Angélica Mejía Ugarte y serán procesadas por el QFB Rodrigo Romero Nava en el Laboratorio de Investigación y Toxicología (nivel de bioseguridad 3) en equipo Sysmex XN-1000. Las muestras permanecerán en resguardo en dicho laboratorio el periodo de tiempo en que se procesen ya que solamente se llevara a cabo una sola medición y posteriormente serán desechadas conforme a los lineamientos establecidos en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 sobre el manejo de RPBI.