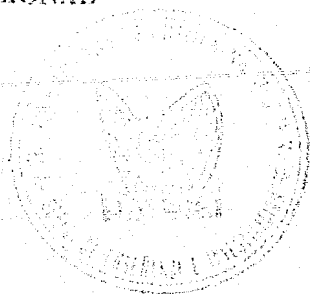


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

HOSPITAL DE GINECOOBSTETRICIA NUMERO 2
CENTRO MEDICO NACIONAL



ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES METODOS
PARA EL DIAGNOSTICO DE RUPTURA
PREMATURA DE MEMBRANAS

T E S I S

DEL CURSO DE ESPECIALIZACION
EN GINECOOBSTETRICIA

DR. ADALBERTO CONTRERAS GOMEZ



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.

A MIS PADRES:

POR HABER LABRADO CON SUS SACRIFICIOS
MI CAMINO, HACIENDO MAS FACIL LOGRAR
MIS ASPIRACIONES.

POR TODO SU CARIÑO Y COMPRESION
CUYAS VIGILIAS HOMBRE ME FORMARON

A MIS HERMANOS:

CON MI FRATERNAL CARIÑO
POR SU ALIENTO Y CONFIANZA

A MI ESPOSA:

SIEMPRE EN TI EN EL PENSAMIENTO
POR EL CARÍO Y ESTIMULO QUE SIEMPRE
ENCUENTRO EN TI
CON TODO EL AMOR QUE TE PROFESO

A MI HIJO:

EL CENTRO DE MIS CUIDADOS
CON LA PROMESA DE VELAR
EL CAMINO QUE ELIJAS
SIEMPRE EL PENSAMIENTO EN TI

A LA DRA. MARIA LUISA BRUNET NARVAEZ

CON TODO MI RESPETO
POR SU AYUDA Y DIRECCION
DE ESTE TRABAJO

A MIS PACIENTES :

RECIEN NACIDO, ENFERMO Y CADAVER
QUE ME HAN ENSEÑADO QUE NACER Y
MORIR SON LIMITES DE ESTA VIDA .
PERMITIENDOME EN SU SER, EL PODER
APRENDER UNA PEQUEÑA PARTE DE LOS
GRANDES SECRETOS DEL SEÑOR .

A MIS MAESTROS:

CON TODO MI AGRADECIMIENTO
POR SUS ENSEÑANZAS.
CON LO QUE HE PODIDO COMPRENDER
QUE LA VIDA SE HA DE ENTREGAR
PARA PODER BIEN CUIDAR DE LOS
HOMBRES SU SALUD

I N D I C E

I.- INTRODUCCION

- a.- DEFINICION
- b.- FRECUENCIA
- c.- ETIOLOGIA
- d.- MORBILIDAD MATERNA
- e.- MORBILIDAD FETAL
- f.- MORTALIDAD MATERNA
- g.- MORTALIDAD FETAL

II.- METODOS DIAGNOSTICOS

- a.- CAMBIOS EN EL PH VAGINAL
- b.- CRISTALIZACION DEL LIQUIDO AMNIOTICO
- c.- RECONOCIMIENTO DE GLOBULOS GRASOS FETALES
- d.- RECONOCIMIENTO DE CELULAS DE DESCAMACION FETAL

III.- MATERIAL Y METODOS

IV.- RESULTADOS

V.- COMENTARIO

VI.- CONCLUSIONES

VII.- CITAS BIBLIOGRAFICAS

I.- I N T R O D U C C I O N

ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES METODOS PARA EL DIAGNOSTICO DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS.

INTRODUCCION.

Fisiológicamente las membranas ovulares se rompen al completarse la dilatación del cérvix. Toda ruptura que sucede en otro momento se denomina intempestiva; pudiendo ser: prematura, precoz o tardía (2).

La ruptura prematura de membranas, es la que acontece durante la gestación antes del desencadenamiento del trabajo de parto (2, 10, 19, 32, 34, 35). Otros autores puntualizan más el término, diciendo que la ruptura debe de ocurrir por lo menos una hora antes del comienzo de las contracciones uterinas regulares (9, 16, 29, 32, 34, 35).

La frecuencia es variable, lo que indica la complejidad de las causas que la originan. Esta va del 5.8% al 13.9%, de acuerdo con lo reportado por diferentes autores (2, 9, 19, 27, 30, 35). Y es seguida de trabajo de parto espontáneo en las siguientes 48 horas en el 70% a 90% de los casos (2, 11, 16, 35).

La etiología de la ruptura espontánea del saco amniótico no es conocida (14, 19).

Numerosas investigaciones se han realizado en busca de la etiopatogenia de la ruptura prematura de las membranas ovula-

res, sin llegar a una conclusión satisfactoria, se ha descrito que uno o más de los siguientes factores pueden influenciar o determinar la ruptura de las membranas en un momento dado: -- edad materna, paridad, duración de la gestación, peso fetal, -- situación fetal, aumento de la presión amniótica, espesor variable y debilidad intrínseca de las membranas (19), trauma vaginal y abdominal reportado por Ekvall (14), infecciones del tracto reproductivo femenino, especialmente del cérvix, documentado por Knox (26), presencia de doble saco amniótico, fenómeno descrito por Schuman (36) así como severas deficiencias de ácido ascórbico (40). La etiología básica en un momento dado, muy probablemente es secundaria a múltiples factores.

MORBILIDAD MATERNA.

La morbilidad materna asociada con la ruptura de membranas, se ha reportado que se eleva conforme aumenta el tiempo que transcurre entre la ruptura de las membranas ovulares -- y el inicio del trabajo de parto.

Breese, reporta un aumento en la incidencia de la -- morbilidad materna de 7.8% en casos asociados con prematuros -- (9); Lanier y colaboradores encontraron un 28% de infecciones--maternas en trasparto y postpartum cuando las membranas se habían roto 24 horas antes del nacimiento del producto (29); --

Lebherz y asociados en un estudio doble ciego usando antibióticos profilácticos encontraron que la morbilidad postpartum puede ser significativamente reducida en razón a una disminución en la incidencia de endometritis, parametritis y pielonefritis (30). La incidencia del desarrollo de amnioitis es variable en las diferentes series publicadas, probablemente dependiendo del nivel sociocultural y manejo de los grupos estudiados. Russel, reporta en un estudio comparativo de casos de membranas rotas, manejadas mediante inducción del trabajo de parto contra aquellas en las que se esperó el parto espontáneo, que de 3644 pacientes con ruptura prematura de membranas 131 pacientes desarrollaron amnioitis, ocurriendo en el 23.6% después de las 18 horas de hospitalización, encontrándose 50 casos en las manejadas con inducción y 81 en las que se esperó el parto espontáneo, para una incidencia global de 3.5% -- (34) Clark, en su serie reporta una incidencia de amnioitis del 11%, siendo el 71.2% coliformes (13). Lanier, refiere -- una incidencia del 28%, cuando las membranas han estado rotas por tiempo mayor de 24 horas antes del parto (29); Ekvall, refiere una incidencia del 11.8% para periodos de latencia mayor de 24 horas (14); Gunn encontró en su serie una morbilidad de 9.1%, concluyendo que el riesgo de desarrollar amnioitis, aumenta proporcionalmente al aumento del periodo de la--

tencia, el riesgo calculado sería del 26.4% para latencias mayores de 24 horas (19).

PREMATUREZ FETAL

El feto prematuro, es otro de las grandes complicaciones que se asocian a la ruptura prematura de las membranas. La incidencia de prematurez varía en las diferentes series publicadas, dependiendo del peso considerado del producto; así tenemos que Gunn reporta una incidencia de prematurez del 17%, para productos con peso menor de 2500 gramos (19). Bresse tomando en cuenta la edad gestacional encuentra el 5.5% para -- productos con peso sobre 2500 gramos y el 1.1% para fetos entre 501 y 2500 gramos (9). Burchell reporta en forma general que en caso de membranas rotas, la prematurez se eleva al doble de casos (11). Lebherz en su amplio estudio refiere que la presencia de prematuro o inmaduro se encontró con una frecuencia de 5:1 en relación a casos de integridad de membranas (30). En nuestro medio Ramírez encuentra el 36.30% (32).

MORTALIDAD MATERNA.

La mortalidad materna debida a ruptura prematura de membranas es baja y por lo tanto pocas veces es referida y comentada en las series publicadas que tratan el Tema. Gunn, no reporta muerte materna en 1884, casos de membranas rotas (19).

Ekvall en 363 casos (14) Ramírez en 2000 casos (32). Breese - en 2887, no reportan muerte materna. Russell en una serie de 3644 pacientes, reporta 5 muertes maternas debidas a sepsis- (34). En una serie de sólo 473 pacientes Lanier encontró 3 -- muertes maternas las cuales las refiere como asociadas a la - ruptura prematura de membranas (29). Sin embargo al analizar- las causas de esta muerte la asociación aún en forma indirecta sería discutible, ya que de las tres pacientes muertas, -- las cuales cursaron con hemorragia postparto, en dos de ellas se encontró el segmento uterino roto y en la otra defunción,- posterior el cuadro de hemorragia la paciente cursó con hipo- fibrinogenemia y murió en Edema agudo de pulmón.

MORTALIDAD PERINATAL.

La mortalidad perinatal es indudablemente el más importante problema asociado con la ruptura prematura de membranas, y variable en las diferentes series revisadas. Lanier la refiere del 4.1% (29) Aguirre en una serie del Hospital civil de Guadalajara la encuentra en 6.8% (2) Gunn la reporta en -- 16.1% (19). Ekvall 21% (14). Breese 30.9% (9). Russell reporta la mayor incidencia, siendo esta de 32% (34).

Cuando las muertes perinatales se estudian en rela- ción a la edad gestacional, se encuentra que ésta aumenta con

forme el peso del producto es menor. En la serie de Gunn se encontró una incidencia del 15.1% para fetos entre 1000 a - - 2500 gramos y 0.8% para fetos con peso mayor de 2500 gramos - (19). Russell reporta una incidencia mayor, para fetos entre- 500 y 2499 gramos ésta es de 23% y para fetos de 2500 gramos- ó más del 9% (34).

Se ha observado también que la mortalidad perinatal se eleva conforme aumenta el período de latencia, así tenemos que Gunn refiere una incidencia de 10.2% cuando el período de latencia fue menor de 24 horas y de 22.5% para períodos mayores de 24 horas (19).

Lenier en su serie, reporta para latencias menores- de 24 horas una mortalidad del 6.1% y para latencias mayores- de 24 horas, esta se eleva a casi el doble 11.6% (29). Breese encuentra para latencias mayores de 48 horas una incidencia - de 44.1% de mortalidad (9).

Dada la frecuencia y la morbi-mortalidad materno-fe- tal, que acompaña a la ruptura prematura de membranas, es am- pliamente deseable establecer un diagnóstico definitivo en ca- sos no comprobados de ruptura de membranas con la menor demora posible y por métodos fáciles y seguros.

II.- METODOS DIAGNOSTICOS

El signo característico y fundamental en el diagnóstico de ruptura de membranas, es la salida por los genitales de líquido procedente de cavidad amniótica generalmente la cantidad perdida es abundante y se incrementa con los aumentos de presión intraabdominal, sin embargo en ocasiones, únicamente existe una historia muy sugestiva del accidente, pero éste no se puede corroborar en forma directa mediante la observación de líquido amniótico, para ayudar al clínico a resolver éste problema, a través de los años se han ideado diferentes métodos, los cuales se pueden agrupar en las siguientes líneas de investigación.

ESTUDIO EN LOS CAMBIOS DE PH VAGINAL.

Parece estar claramente establecido, que el líquido amniótico proviene de múltiples fuentes maternas y fetales, - la composición y la función de este líquido es el resultado de la relación fetoplacentaria. La secreción del epitelio amniótico, el trasudado de la sangre materna, el árbol respiratorio fetal, el cordón umbilical y la orina emitida por el feto contribuyen en conjunto a la formación del líquido amniótico, lo que le confiere características especiales que contribuyen a su identificación precisa.

Temesvary en 1932, usando métodos colorimétricos, -

encontró que el Ph del líquido amniótico es de 7.0 a 7.7 y para la vagina de mujeres embarazadas a término un Ph de 5.2 a 6.0 y en la vagina de mujeres embarazadas en trabajo de parto y con membranas rotas un Ph de 6.8 a 8.2.

Basado en este conocimiento, de que el Ph vaginal es ácido y el del líquido amniótico alcalino, se pensó que cuando las membranas fetales estuvieran rotas el Ph alcalino del líquido amniótico variaría la acidez normal de la vagina a un Ph alcalino, por lo que un indicador que permitiera identificar estos cambios sería útil para los casos en que existiera duda sobre la integridad o ruptura de las membranas ovulares.

Para la realización de ésta técnica, se ha empleado como indicador, el papel de Litmus sugerido por Gold en 1927. En 1932 Temesvary propuso el uso de papel filtro mojado en una solución al 0.2% de alcohol-bromothymol-azul, que cambia de naranja a verde-azul con Ph de 6.0 a 7.6. En su estudio en 138 mujeres, la prueba fue satisfactoria en 131 casos, fallando solamente en 5%, muy por debajo del 35% de error con el uso de papel de Litmus (25).

En 1932, Berlind usando el método propuesto por Temesvary, en 50 pacientes; lo encontró exacto en todos (7).

En 1935, King, propuso una modificación a la técnica de Temesvary, en vez de papel filtro, recomienda el uso de aplicadores de algodón mojados en el bromo-thymol-azul (di-brom-thymol-sulphonaphthalin) en su serie de 314 pacientes, - la prueba fue correcta en 99.3% con membranas íntegras y - - 94.7% en caso de membranas rotas. El porcentaje de error se - encontró que se elevaba conforme aumenta el tiempo de ruptura de membranas, siendo de 2% para tiempo de 4 horas, de 8% para tiempo de 12 a 24 horas y de 50% para mayores de 24 horas - - (25).

En 1938, Baptisti, introduce el uso de papel de nitrazina.

En 1940, Abe propone una modificación a la técnica de Baptisti, que consiste en el uso de aplicadores de algodón mojado en nitrazina (sodium-dinitrophenylazonaphthol-dissulphonate) el cual se introduce a la vagina a través de un tubo de vidrio para evitar contaminación con orina, la Nitrazina tiene un Ph neutro de 6.6 y cambia de color amarillo-canario, a distintas variaciones de verde, lo que confiere un mayor rango de seguridad. El diagnóstico de ruptura de membranas se hace con Ph de 6.5 a 7.5 y la coloración del papel de nitrazina es a Ph de 6.5 color verde-azul; Ph de 7.0 color azul gris; Ph de 7.5 color azul-oscuro.

Abe realizó su estudio en 176 pacientes encontrando para membranas íntegras exactitud de 96.2% y para membranas rotas de 98.9% (1)

Las limitaciones reportadas por los diferentes investigadores como inherente al método de cambio de Ph vaginal -- son las siguientes: La presencia de sangre, por ser ésta alcalina (25); Excesiva secreción vaginal (1); Orina alcalina -- (1,7); Solución antiséptica (25) los factores referidos, al encontrarse en la vagina pueden producir una reacción positiva de la prueba en presencia de membranas íntegras y por el contrario, la poca cantidad de líquido perdido o un tiempo prolongado de ruptura puede hacer que nuevamente domine la reacción ácida de la vagina, produciéndose un resultado negativo en presencia de membranas rotas.

CRISTALIZACION DEL LIQUIDO AMNIOTICO.

Debido a la relación tan estrecha que guarda el líquido amniótico con la placenta y el feto, numerosas investigaciones se han realizado para conocer su composición y poder detectar alteraciones fetales.

De estas investigaciones se ha encontrado que el líquido amniótico se compone de 98% de agua y 2% de soluto. Ocupando un lugar importante el estudio de los componentes inor-

gánicos y en especial de los electrolitos.

ELECTROLITOS EN MILIEQUIVALENTE POR LITRO DE
LIQUIDO AMNIOTICO

Substancia	valor medio .	valor promedio
Sodio	129	133
cloro	103	102
potasio	4.8	4.9
calcio	3.8	4.0

Tomado de: Bosnes, RW. Composition of amniotic fluid.
Clin Obstet Gynecol 9:440, 1966.

En 1955, Kardos y Tamási describieron la crystalización del líquido amniótico en forma de hebreo encontrando -- que éste fenómeno depende de la concentración relativa de -- electrolitos, principalmente del cloruro de sodio (27).

Kovacs en 1962, efectúa una reevaluación de la prueba propuesta por Kardos para diagnóstico de ruptura de membranas mediante la identificación de la crystalización del líquido amniótico. El método consiste en introducir una pipeta a la cavidad vaginal, para obtener secreción vaginal la cual se coloca sobre un portaobjeto y se deja secar a la temperatura-

ambiente para observarlo posteriormente al microscopio en -- busca de arbolización que es la cristalización típica del líquido amniótico.

El estudio realizado por Kovacs comprendió 224 pa- cientes embarazadas, encontrando una exactitud diagnóstica - de 96.25% en rasgos de membranas rotas con 3.75% de falsas ne- gativas y de 96.78% en membranas integra con 3.12% de fal- sas positivas (27).

Tricomi en 1966, reporta para el método una seguridad de 95.2% en membranas rotas y de 95.6% en membranas integras (38).

Estos investigadores refieren como factores que influyen en la exactitud del método: La presencia de sangre, - tiempo prolongado de las membranas rotas, vaginitis y mecò- nio, para la presencia de falsas negativas.

Las falsas positivas son debidas a contaminación - con soluciones antisépticas y con moco cervical. Zondek, re- fiere que en el primer trimestre el moco cervical cristaliza en un 11.5% y 2.5% en el segundo y tercer trimestre (27, 38).

Las ventajas del método son: Que es fácil el reco- nocer la arbolización, simple, confiable, rápida, no requie-

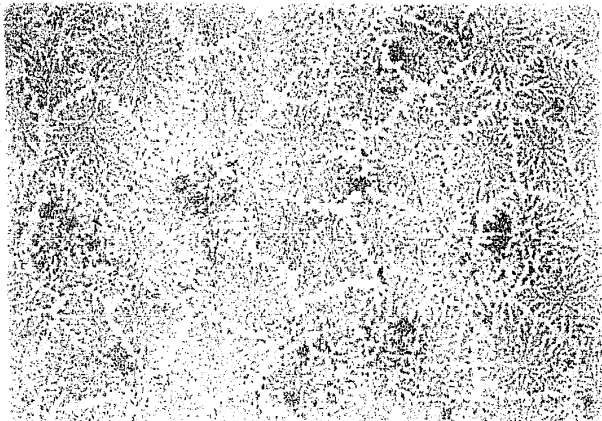


Figure 1. Micrograph of the surface of the material after 1000 cycles. (100x)

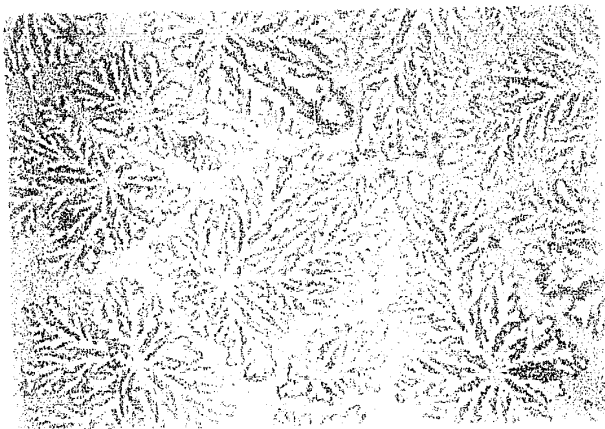


Figure 2. Micrograph of the surface of the material after 1000 cycles. (100x)

re uso de tinciones especiales ni de equipo.

TECNICAS DE TINCION PARA LA IDENTIFICACION DE GLOBULOS GRASOS, DENTRO O FUERA DE LAS CELULAS.

Las determinaciones de lípidos en el líquido amniótico pueden ser de utilidad clínica, se ha observado un patrón anormal en los fosfolípidos en los casos de membrana hialina. En el líquido amniótico existen cerca de 60 mg% de lípidos totales y la concentración de fosfolípidos es de 15-mgs% representando una cuarta parte del contenido global.

En 1963, Kittrich publicó un método histoquímico para la identificación de lípidos neutros contenidos en las células, el cual por sus implicaciones clínicas, ha adquirido una gran importancia. El procedimiento incluye el uso del Sulfato Azul de Nilo. Cuando se adiciona este colorante a una muestra de líquido amniótico, las células que poseen lípidos neutros, se tiñen de color naranja, mientras que las que no contienen grasa se tiñen de color azul. (10)

En 1965, Brosens y Gordon presentan su experiencia en el diagnóstico de ruptura de membranas mediante el uso del sulfato azul de nilo. El método consiste en tomar una muestra del fondo de saco posterior, mediante el uso de una pipeta estéril y se hace un frotis sobre un portaobjeto lim-

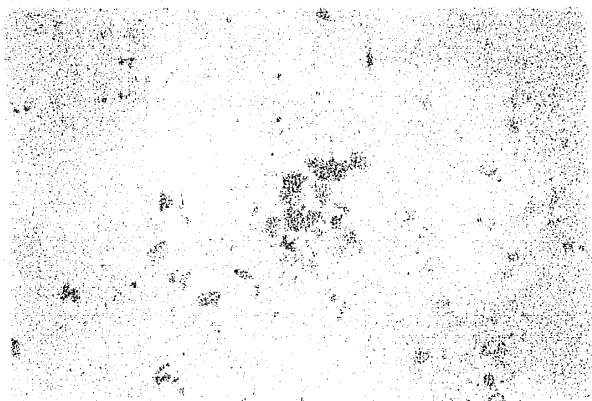


FIGURE 1. PROFILE OF A SINGLE PARTICLE IN THE CENTER OF THE FIELD OF VIEW.

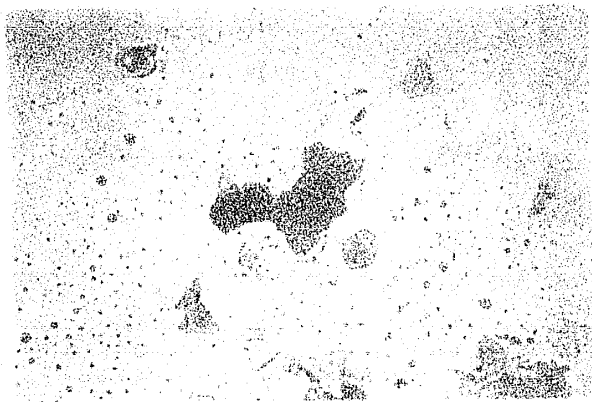


FIGURE 2. A SINGLE PARTICLE IN THE CENTER OF THE FIELD OF VIEW.

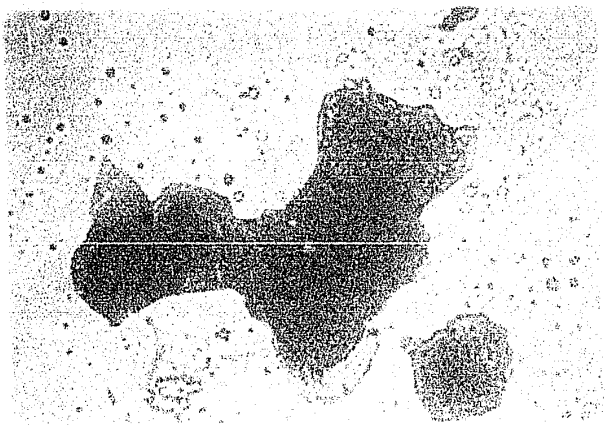
pio, no se requiere ningún fijador y la preparación puede teñirse antes o después de secarse. Se la añade una gota de solución sulfato azul de nilo al 0.1% y se cubre con un portaobjeto. Si se desea puede calentarse ligeramente el portaobjeto, con lo que aumenta la intensidad de la coloración.

De acuerdo con la reacción tintorial al azul de nilo, las células pueden dividirse en tres grupos: a.- Células azules; b.- Células incoloras y c.- Células naranjas. Todas ellas pueden ser nucleadas e anucleadas siendo la presencia de células naranjas anucleadas, las que se usan para el diagnóstico de ruptura de membranas.

El método se encontró exacto en 100% cuando las membranas estaban íntegras y en el 96% con membranas rotas (10).

Bailón en 1970, realiza un estudio para evaluación del método en el Hospital de Ginecoobstetricia número 3 del Instituto Mexicano del Seguro Social, reportando una efectividad diagnóstica del 85.40% (5).

Este método tiene grandes ventajas, pero también limitaciones. Las ventajas son las siguientes: no requiere de personal especialmente entrenado en citología, todo el -



proceso se realiza en no más de 10 minutos no se encuentra -
 influido por soluciones antisépticas, sangre, orina, exudado
 inflamatorio que pueden encontrarse en la vagina. Puede prac-
 ticarse aún en pequeñas cantidades de líquido amniótico y --
 teóricamente no se encuentra influenciado por el tiempo - -
 transcurrido entre la ruptura de membranas y el tiempo en --
 que se realiza la prueba.

La única limitación reportada, es que las células-
 fetales cargadas de grasa, cuya presencia es indispensable -
 para hacer el diagnóstico, se encuentran en un número muy re-
 ducido antes de la semana 32 de la gestación y sólo son abun-
 dantes después de la semana 36 (10)

IDENTIFICACION CITOLOGICA DE CELULAS ESCAMOSAS FETALES.

El estudio de las células del líquido amniótico, -
 proporciona importante información referente a la constitu-
 ción genética del producto, así como un índice de maduración
 fetal.

La concentración celular del líquido amniótico es-
 mayor a medida que progresa la gestación. Votta, encuentra -
 un promedio de 83.39 células por mmc en especímenes obteni-
 dos entre la semana 28 y 37 de la gestación y aumenta a - -
 272.17 por mmc entre la semana 38 y la 42 o más de la gesta-

ción (39).

El origen de las células del líquido amniótico fue primariamente estudiado por Daniel en 1904, quién hace la diferenciación entre células epidérmicas y células del amnios (39).

Posteriormente varios investigadores han estudiado el origen de estas células, entre ellos Huijes para determinar este punto, la morfología de las células encontradas en el líquido amniótico, se han comparado con frotis de mucosa bucal, vulva, piel, amnios, cordón umbilical y orina de recién nacido (24). De estas observaciones se ha determinado que las células proceden esencialmente de mucosa bucal fetal, epitelio vaginal piel fetal, células del cordón umbilical y del amnios.

La morfología de las células del líquido amniótico, ha sido estudiada con microscopio de luz y con microscopio electrónico y se han clasificado de acuerdo a su morfología y características tintoriales (22, 23, 24).

Huijes describe cuatro tipos de células epiteliales; grandes células eosinófilas, grandes células cianófilas, pequeñas células cianófilas redondas y células eosinófilas poligonales, los tres primeros grupos celulares pueden ser-

nucleadas y anucleadas, el cuarto grupo son siempre anucleadas. (24)

Las células que han ameritado mayor atención en su estudio han sido las células poligonales anucleadas, las cuales se han descrito que corresponden a células de descamación de piel fetal (22, 23, 24).

Con el microscopio electrónico, se ha observado que la morfología de las células varía de acuerdo a la edad gestacional. En especímenes menores de 16 semanas de gestación, se observan pocas células, las cuales son invariablemente nucleadas, estas células son más numerosas en especímenes entre 16- y 21 semanas y solo 50% a 75% de ellas contienen núcleo, disminuyendo a un 30% en especímenes más viejos. Estas células son clasificadas en dos grupos: Tipo 1, son de origen fetal, su tamaño es grande y morfología poligonal, muchas de ellas anucleadas, con microvellocidades en su superficie, con presencia de glucógeno, el cual es variable de acuerdo a la edad gestacional, siendo la cantidad menor a mayor edad gestacional. Tipo 2, son de origen amniótico, su tamaño es aproximadamente la mitad que las anteriores, redondas con un gran núcleo central o excéntrico, poseen un aparato de Golgi bien diferenciado y en ocasiones se observan mitosis y actividad fagocitaria (22).

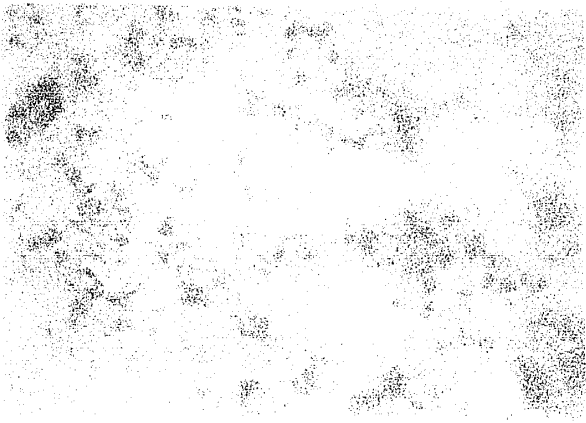


PHOTO 1. (TOP) GROUP OF PEOPLE, IDENTIFIED AS BEING RELATED
TO THE SUBJECT OF THIS REPORT, TAKEN AT THE

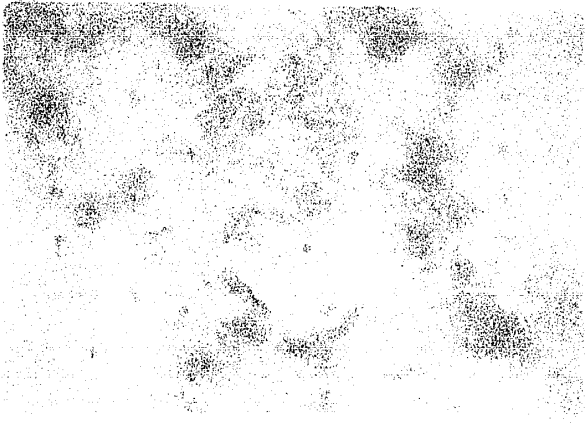


PHOTO 2. (BOTTOM) GROUP OF PEOPLE, IDENTIFIED AS BEING RELATED
TO THE SUBJECT OF THIS REPORT, TAKEN AT THE

Los estudios realizados demuestran que las células de origen fetal se encuentran en el líquido amniótico a partir de la semana 26 a 28 (23, 38).

El estudio citológico del líquido amniótico ha sido empleado como un método auxiliar en el diagnóstico de la ruptura prematura de membranas.

La identificación de las células de descamación de piel fetal fue descrita en 1942, utilizando en el transcurso del tiempo, distintas técnicas de tinción para su identificación precisa.

En 1942 Borgeois, refiere que en la literatura revisada por él hasta esa fecha, no había documentación, sobre el uso de la presencia de escamas fetales, para el diagnóstico de ruptura de membranas (8).

Bourgeois, encuentra que las escamas fetales son células del vernix caseosa, y dado que el vernix se forma durante el sexto mes lunar, es posible a partir de esta fecha de la gestación hacer el diagnóstico de ruptura de membranas mediante su identificación (8).

Usando como tinción la técnica tricrómica de Nassons, -- efectúa un estudio en 344 frotis vaginal de 275 pacientes embarazadas con más de 32 semanas de embarazo. Encontrando una exactitud-

de 99% para membranas integras y 94,2% para membranas rotas - (8).

Hopman en 1952, propone un método para el diagnóstico de ruptura de membranas, basado en la identificación de células escamosas fetales, usando para tinción la técnica de Papanicolaou. El método consiste en tomar una muestra de material obtenido mediante una pipeta estéril de fondo de saco posterior vaginal y efectuar un frotis en la mitad de un portaobjeto, en la otra mitad se coloca líquido amniótico, se tinen con la técnica de Papanicolaou y se comparan ambas mitades en busca de células de descamación fetal, en la mitad considerada como problema, teniendo para comparación la otra mitad en donde existe abundantes células poligonales, translúcidas anucleadas, con protoplasma finamente granular y de color verde-claro, gris claro, o rosa, que corresponden a las células diagnósticas (20).

Goldfine en 1955, refiere que la demostración de células escamosas proveniente de la desintegración de la piel fetal, requiere conocimientos de citología para diferenciarlas de células descamadas de la vagina materna, por lo que propone una modificación en las bases diagnósticas, usando la técnica de Papanicolaou.

Los criterios histológicos que se toman en cuenta -

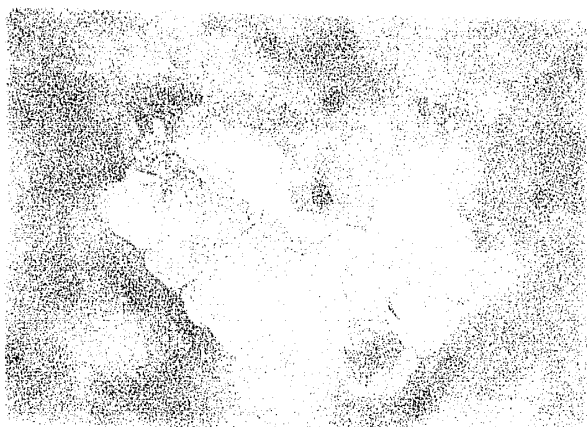
para hacer diagnóstico de membranas íntegras son: células superficiales acidófilas en grupos, y algunas células intermedias basófilas, así como un gran número de leucocitos. Los criterios para membranas rotas son: Las células escamosas son predominantemente basófilas, aumenta la cantidad de células intermedias basófilas, y los leucocitos disminuyen en número. Esto es explicado por el efecto de lavado ejercido por el líquido amniótico al pasar por la vagina.

El método fue puesto en práctica en 50 pacientes, encontrando una falla en todos los casos, para una exactitud diagnóstica de 98% (18).

Goldfine, observó e insinúa, que el epitelio vaginal se tiñe de rojo cuando el Ph es ácido, y azul cuando el medio es alcalino.

En 1957 Hopman, describe las características de las células del vernix caseosa, las cuales son: morfología poligonal, con citoplasma claro y translucido, en ocasiones se observa granulaciones finas y una especie de sistemas de canales, y se tiñen con la técnica de Papanicolaou de color amarillo-claro (21). Característica que las hace diferentes a las células vaginales.

Hopman, comenta el trabajo de Goldfine, conside-



rando que el cambio de coloración de las células no siempre es debida a la presencia de un medio alcalino o ácido, ya que la infección de la vagina por tricomonas da un pH alcalino y las células escamosas encontradas no son basófilas.- (21).

Langrader en 1958, reporta una exactitud diagnóstica del método de Papanicolaou de 95%, pero en cuenta un alto grado de falsas positivas que llega al 50% (20).

En 1963 Averette y colaboradores introducen el uso de Pinacyanole, el cual tiene la propiedad de teñir las células escamosas fetales de un color azul-blanco con lo que se diferencian de las células vaginales, reportando una exactitud de 97.3% para membranas rotas y 95.7% para membranas íntegras (4).

En 1964 Gall, efectua una reevaluación de la técnica usando el Vernitest (0.25% de solución de clorhidrato de pinacyanole en 50% de alcohol de metileno) el método fue practicado en 250 pacientes, encontrando una exactitud de 94% con 1.2% de falsas positivas y 4.8% de falsas negativas (17).

En 1972 Bercovici, reporta que para tener mayor-

Índice de seguridad en el diagnóstico de ruptura de membranas mediante un frotis vaginal teñidos con la técnica de Papanicolaou, deben tomarse en cuenta los siguientes criterios histológicos: La coloración de los elementos celulares, la presencia de flora, leucocitos, células eosinófilas y escamas fetales. Considerando como datos diagnóstico de ruptura de membranas: La dispersión celular, tinción débil del núcleo y citoplasma y de otros elementos celulares, reducción y dispersión de la flora y aspecto de limpieza del frotis, así como la presencia de células poligonales, color naranja y anucleadas (6).

El método fue evaluado en 65 casos de ruptura de membranas, encontrando una exactitud en 44, para un porcentaje de 67.6% (6).

Los siguientes factores han sido reportados como causas de falsas positivas: Contaminación con células vulvares (8), y en forma dudosa se reporta la ruptura de doble saco de Schuman, tomando en cuenta que en 1950 Herting, demostró células entre corion y amnios, que él consideró de origen fetal, aunque sus fotografías presentadas no son células típicamente fetales (17).

Las falsas negativas se han reportado relaciona--

das con: Pocas células por embarazo menor de 25 semanas -- (17), o menor de 28, según otros autores (20,21) frotis --- mal preparados (18).

La conclusión de los diferentes autores que han -- tratado el tema, es que la identificación de células quera- tinizadas de descamación fetal, encontradas en frotis de ci tología vaginal, teñidas con la técnica de Papanicolaou, es un método sencillo, ampliamente sensible para el diagnósti- co de ruptura de membranas ovulares, que no se encuentra in fluenciada por la presencia en la vagina de: sangre, exceso de secreción vaginal o cervical, orina y soluciones antisép- ticas (6,18,20,21,28).

El tiempo transcurrido entre la ruptura de las -- membranas y el momento de la prueba, no influye en forma -- tan adversa como con otros métodos diagnóstico. Bourgeois - encuentra para los primeros cuatro días una exactitud del - 92% y del quinto al doceavo día un 50%, dando un total de - 81.8% de exactitud entre el primero y el doceavo día de mem- branas rotas (8).

Otras técnicas diagnósticas de mayor exactitud, - pero que implican el riesgo de una amniocentesis son a ba- se de soluciones de azul de metileno o bien de sodio fluores- cente (37).

En la tabla I, se presenta un resumen de los mejores estudios para detección de ruptura de membranas publicados de 1932 a 1975.

TABLA I.

AUTOR	AÑOS	PRUEBA USADA	CASOS EXACTITUD		FALSAS	
					+	-
Berlind	1932	Bromthymol blue	50	100%	---	---
King	1935	Bromthymol blue	314	96.7%	0.6	0.6
Von Numers	1936	Sudan III	280	96.5%	2.8	0.7
Baptisti	1938	Nitrazine	50	94.0%	6.0	0.0
Abe	1940	Nitrazine	176	97.7%	1.1	3.8
Bourgeois	1942	Mason trichrome	275	97.1%	1.0	5.8
Goldfine	1955	Papanicolaou	50	92.0%	6.0	2.0
Paavola	1958	Crystalization	264	96.6%	2.6	0.8
		Sudan III	264	96.8%	1.7	1.5
Langrader	1958	Papanicolaou	130	95.0%	50.0	5.0
		Crystalization	150	73.0%	12.0	27.0
		Methylene blue	137	96.0%	---	---
Volet	1960	Crystalization	301	87.3%	5.5	10.2
		Bromthymol	304	76.7%	1.5	21.8
		Sudan III	65	66.5%	9.8	23.8
		Lanugo hair	65	1.5%	---	98.5
Smith	1962	Crystalization	509	98.5%	1.9	1.2

AUTOR	AÑO	PRUEBA USADA	CASOS EXACTITUD		FALSAS		
					+	-	
Kovacs	1962	Crystalization	224	85.6%	3.7	3.1	
Averette	1963	Pinacyanol	105	97.0	2.6	4.4	
Ferron	1963	Crystalization	192	96.3	0.9	1.2	
Ferguson	1963	Pinacyanol	205	97.5	1.0	1.6	
Kaplan	1963	Nitrazine	50	---	70.0	---	
Gall	1964	Pinacyanol	250	94.0	1.2	4.8	
		Nitrazine	250	82.6	15.0	2.4	
Kushner	1964	Acridene orange	300	89.7	13.7	10.3	
Brosens	1965	Nile blue	111	98.2	0.0	1.8	
Tricome	1966	Crystalization	233	95.2	4.4	4.8	
Kraus	1968	Nile blue	90	94.0	---	6.0	
Friedman	1969	Historia	100	90.3	11.6	9.7	
		Nitrazine		90.3	17.4	9.7	
		Crystalization		87.1	5.8	12.9	
		Papanicolaou		93.5	8.7	6.5	
		Pinacyanol		71.0	1.5	29.0	
		Acridene					
		orange		61.2	7.3	38.8	
		Nile blue		80.7	2.9	19.3	
Atlay	1970	Evans blue	18	- Description-			
Bercovici	1972	Papanicolaou	65	67.6	---	32.3	

Los trabajos publicados reportando el uso de frotis vaginal con técnica de tinción de Papanicolaou, para el diagnóstico de ruptura de membranas, toman en cuenta varios factores y criterios histológicos, lo que dificulta el diagnóstico y hace necesario un conocimiento de citología para su valoración adecuada.

Considerando que la identificación de células escamosas procedentes de descamación de la piel fetal, es un parámetro útil y suficiente para el diagnóstico de ruptura del saco amniótico, se elabora este trabajo con el objeto de comparar éste método que consideramos más exacto y seguro, con la técnica de tinción con sulfato azul de nilo para la identificación de grasa intracelular y la cristalización del líquido amniótico.

III.- MATERIAL Y METODOS.

Se estudiaron 50 pacientes embarazadas del área de -
tocoquirúrgica del Hospital de Ginecoobstetricia número 2 y 2A
del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro -
Social, de julio de 1977 a febrero de 1978.

Las pacientes fueron de diferente edad gestacional, -
sin trabajo de parto al momento de presentarse la salida de lí-
quido transvaginal, en quienes la exploración física no pudo -
corroborar el escurrimiento transcervical de líquido amniótico.

Con la paciente en posición ginecológica se introdu-
jo el espejo vaginal sin lubricante, se visualizó el cérvix y -
con abatelengua no encerado se obtuvo mediante raspado leve ma-
terial del fondo de saco posterior. De el material así obteni-
do se prepararon tres frotis: El primero de ellos fue secado -
al aire, leyéndose inmediatamente después, de acuerdo con el -
patrón de cristalización; Un segundo frotis fue teñido des- -
pués de su obtención con una gota de sulfato azul de nilo al -
0.1%, cubriéndose con un cubreobjeto y calentando ligeramente -
la muestra, se removió el exceso de colorante y se interpretó;
El tercer frotis se fijó con solución en aerosol hidrosoluble
para citología exfoliativa y fué enviado al servicio de cito- -
diagnóstico para tinción con técnica de Papanicolaou. Todas -
las muestras fueron observadas al microscopio de luz simple --
inicialmente con lente de bajo poder y posteriormente a mayor
aumento para confirmación diagnóstica.

Se consideró positivo el estudio si se encontraba:-

En el frotis número 1. Arbilización en helecho del líquido - amniótico. (Foto 1 y 2). En el frotis número 2. Presencia de células naranjas anucleadas. (Foto 3,4 y 5). En el frotis número 3. Presencia de células poligonales de color amarillo, o rosa pálido con citoplasma tenue, en grupos y anucleadas. - (Foto 6, 7 y 8).

Todas las pacientes fueron seguidas durante el trabajo de parto, considerando como integridad de membranas si a dilatación de 6 centímetros se palpaban tensas, sin observarse evidencia de pérdida de líquido transvaginal y como - - ruptura de membranas, la ausencia de éstas y la salida franca de líquido amniótico transcervical en el transcurso del trabajo de parto.

IV.~ RESULTADOS.

De las 50 pacientes estudiadas 18 fueron primigestas, las otras 32, tenían uno o más embarazos previos, la edad gestacional varió de 37 a 42 semanas.

Se comprobó la ruptura de membranas en 37 casos, - 74% e integridad de las mismas en las 13 restantes 26%. En este último grupo se encontró como causa de escurrimiento -- transvaginal : Sangrado cervical en 8 casos, Leucorrea por - tricomonas en 2 y en los otros 3, no se logró determinar la etiología que explicara la pérdida de líquido.

De los 50 casos estudiados, la efectividad diagnó^g tica global fué: Tinción con técnica de Papanicolaou 96%; - - Cristalización del líquido amniótico 64% y tinción con Sulfa^g to de azul de nilo 62%.

De las 37 pacientes en quienes se comprobó la - -- ruptura de membranas, los resultados obtenidos con los dife- rentes métodos se muestra en el cuadro número 1.

De los 13 casos en que existió integridad de - -- membranas, se obtuvieron los resultados que se muestra en el cuadro número 2.

CUADRO 1.

METODO	EXACTITUD		FALSAS NEGATIVAS	
PAPANICOLAOU	36	97.39%	1	2.71%
CRISTALOGRAFIA	21	56.75%	16	43.25%
AZUL DE NILO	19	51.35%	18	48.65%

Exactitud de predicción en 37 casos con membranas rotas.

CUADRO 2.

METODO	EXACTITUD		FALSAS POSITIVAS	
PAPANICOLAOU	12	92.30%	1	7.70%
CRISTALOGRAFIA	11	87.61%	2	15.39%
AZUL DE NILO	12	92.30%	1	7.70%

Exactitud en 13 casos con membranas integras.

V.- COMENTARIO

Los resultados obtenidos muestran que el reconocimiento de células de descamación de la piel fetal en frotis de citología vaginal teñidas con la técnica de Papanicolaou, es el que confiere mayor índice de seguridad para el diagnóstico de ruptura prematura de las Membranas ovulares.

En el presente estudio se encontró diferencia en los porcentajes de exactitud, en relación a lo reportado por otros autores, en los casos con membranas rotas.

En el método de cristalización, la positividad diagnóstica fue de 56.75%, menor a los reportado por Kovacs de 96.25 % (27); Tricomi 95.2% (38); Friedman 87.1% (16); Langrader 73 % (29).

Para la identificación de globulos grasos dentro de las células con técnica de Sulfato de azul de nilo, la efectividad diagnóstica fue de 51.35%, menor a los reportes de Brosens de 96.29% (10); a las de Bailón de 85.40% (5); y a los de Friedman de 80.7% (16)

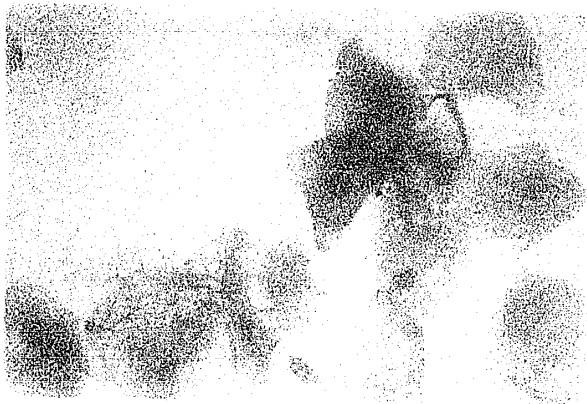
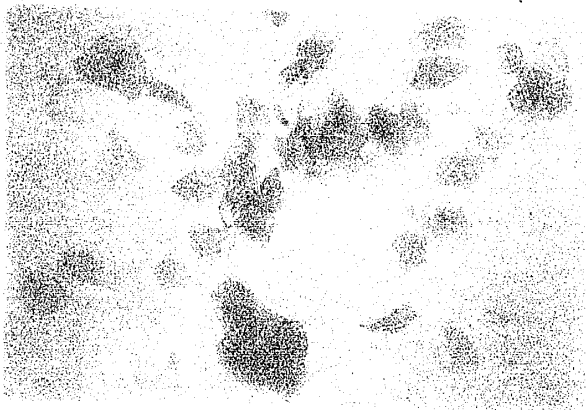
En cuanto a la exactitud de los métodos en casos de membranas íntegras, se encontró para la técnica de Cristalización una exactitud diagnóstica de 87.61% ligeramente menor a lo reportado por Tricomi de 95.6% (38); a lo de Kovacs de 96.78% (27) y a los de Friedman de 96.4% (16).

Para la técnica de tinción con Sulfato de azul de nilo se encontró exactitud diagnóstica de 92.30%, prácticamente similar a lo reportado por Bailón de 95% (5), y a los de Brosens de 100% (10).

Los resultados obtenidos, mediante la identificación citológica de células escamosas de origen fetal, mediante la tinción con técnica de Papanicolaou, no se pueden correlacionar con los trabajos de otros autores por no referirse éstos exclusivamente a la presencia de escamas fetales, como en el presente estudio.

Las falsas positivas obtenidas con el método de Cristalización, se encuentran relacionadas con arborizaciones atípicas del moco cervical, el cual se ha demostrado cristaliza en el 5 a 30% de los casos, en nuestro medio Rincón Castaño da reporta una incidencia de 12.33% en pacientes embarazadas (33). En este estudio se obtuvieron dos falsas positivas probablemente ocasionadas por este factor o bien contaminación con benzal.

La falsa positiva obtenida con el método de Sulfato-azul de nilo, se consideró debida a contaminación vulvar. La falsa positiva con la técnica de tinción de Papanicolaou, puede ser también explicada por la contaminación vulvar, ya que estas células toman la misma coloración que las escamas fetales y también carecen de núcleos, su diferencia básica es que



son de mayor tamaño y se encuentran generalmente aisladas -- (foto 9). Y a que el frotis se encontraba muy espeso, lo -- que dificultó su interpretación adecuada.

De los tres métodos estudiados, la técnica de tin--- ción con Sulfato azul de nilo, fue la que mostró mayor índice de falsas negativas, a pesar de que todos los embarazos eran mayo--- res de 37 semanas. Se considera ésto debido a contaminación -- de la muestra con sangre, o bien a material inadecuado para va--- loración por proceso inflamatorio intenso, secundario a in---- fección o infestación vaginal, lo cual se corroboró con el es--- tudio citológico que mostró presencia de tricomonas, monilias--- y abundante flora bacteria en los frotis correspondientes a -- las pacientes en quien el estudio con Sulfato azul de nilo fue negativo.

Las falsas negativas obtenidas con el método de Cris--- talización, fueron debidas a contaminación de la muestra con -- sangre y exudado inflamatorio.

La única falsa negativa observada con el método de--- tinción con técnica de Papanicolaou, fué debida a escaso mate--- rial en la laminilla.

VI. CONCLUSIONES.

La ruptura prematura de las membranas ovulares es un problema relativamente común en la práctica obstétrica, en la mayoría de los casos, el diagnóstico es evidente pero existe un pequeño número, en los cuales la historia es sugestiva de ruptura del saco amniótico, pero los hallazgos físicos no son concluyentes.

El diagnóstico adecuado y oportuno de ruptura de membranas, puede obligar a la hospitalización, uso de antibiótico e inclusive el decidir sobre la vía de terminación del embarazo. Un diagnóstico inadecuado de integridad de membranas en presencia de ruptura de las mismas, influye grandemente en la morbi-mortalidad materno-fetal.

Para ayudar al clínico a resolver este problema, se han ideado diversos métodos de laboratorio, los cuales ya fueron referidos, entre ellos se encuentra el examen microscópico de material obtenido de la vagina método que se utilizó en el presente estudio por considerarlo técnicamente fácil y seguro, evitándose el riesgo de una amniocentesis. De los resultados obtenidos se concluye:

- 1.- El método de Identificación de células escamosas procedente de descamación de la piel -

fetal, observadas en frotis vaginal, mediante la tinción con técnica de Papanicolaou, ofrece una seguridad diagnóstica de 96%. Mayor -- que lo obtenido con la Cristalización del líquido amniótico y la identificación de globulos grasos intracelular, mediante tinción con Sulfato azul de nilo.

- 2.- El tiempo requerido para el estudio, desde el momento de tomar la muestra, hasta su interpretación es de 60 minutos.
- 3.- No se encuentra influido por la presencia de sangre, soluciones antisépticas, exudado inflamatorio y moco cervical.
- 4.- Teóricamente el diagnóstico es posible desde la semana 28 de gestación.
- 5.- Dado que se investiga un solo parámetro que son la presencia de células escamosos fetales, las cuales por sus características, morfológicas y tintoriales son fácil de reconocer, no requiere de un conocimiento especializado en citología.

6.- Dado que estas células pueden permanecer mucho tiempo en la vagina, su efectividad en comparación con los otros métodos, resalta favorablemente para caso con ruptura prolongada de las membranas.

VIII.- CITAS BIBLIOGRAFICAS.

CITAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- ABE, TOM.: THE DETECTION OF THE RUPTURE OF FETAL MEMBRANES WITH THE NITRAZINE INDICATOR. AM.J. OBSTET AND GYNEC. 39: 400, 1940.
- 2.- AGUIRRE, M.M.; ORIÑANA, C.H. ; SANCHEZ, M.M.; ROTURA - PREMATURA DE LAS MEMBRANAS OVULARES. GINEC. OBSTET. - MEX. 24: 541, 1968.
- 3.- ANDERSON, B.A.; GRIFFITHS, D.A.; ESTIMATION OF DURATION OF GESTATION BY AMNIOTIC FLUID CYTOLOGY. J. - - OBSTET GYNAEC. BRIT. CWLTH. 75: 300, 1968.
- 4.- AVERETTE, H.E.; HOPMAN, B.C.; FERGUSON, J.H.: CYTO -- DIAGNOSIS OF RUPTURED FETAL MEMBRANES. AM. J. OBSTET- AND GYNEC. 87: 226, 1963.
- 5.- BAILON, U.R.; CONDE, M.B.; ZARATE, S.H.; ALVAREZ, M.O.: DIAGNOSTICO DE RUPTURA DE LAS MEMBRANAS OVULARES. METODO COLORIMETRICO CON SULFATO AZUL DE NILO. GINEC. - OBSTET. MEX. 27: 569, 1970.
- 6.- BERCOVICI, B.; DIAMANT, Y.Z.: VAGINAL CYTOLOGY OF PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES. OBSTET GYNECOL. 39: 861, 1972.
- 7.- BERLIND, M.M.: A TEST FOR RUPTURED BAG OF WATERS. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 24: 918, 1932.
- 8.- BORGEAIS, G.A.: THE IDENTIFICATION OF FETAL SQUAMAS- AND THE DIAGNOSIS OF RUPTURED MEMBRANES BY VAGINAL - SMEAR. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 44: 80, 1942.
- 9.- BREESE, M.W.: SPONTANEOUS PREMATURE RUPTURE OF THE - MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 81: 1086, 1961.

- 10.- BROSENS, I.; GORDON, H.: THE CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF -
RUPTURED MEMBRANES USING NILE BLUE SULPHATE STAINING. -
J. OBSTET. GYNAEC. BRIT. CWLTH. 72: 342, 1965.
- 11.- BURCHELL, R.C.: PREMATURE SPONTANEOUS RUPTURE OF THE -
MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 88: 251, 1964.
- 12.- CASADEI, R.; D'ABLAING III, G.; KAPLAN, B.J.; SCHWINN -
C.P.: A CYTOLOGIC STUDY OF AMNIOTIC FLUID. ACTA CYTOL. -
17: 289, 1973.
- 13.- CLARK, D.M.: PERINATAL MORTALITY AND AMNIOITIS IN A GE-
NERAL HOSPITAL POPULATION. OBSTET AND GYNEC. 31: 714, -
1968.
- 14.- EKVALL, L.D.; WIXTED, W.G.; DYER, I.: SPONTANEOUS PREMA-
TURE OF THE FETAL MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. -
91: 848, 1961.
- 15.- ESTEVES, F.R.: CITOLOGIA Y CITOGENETICA DEL LIQUIDO - -
AMNIOTICO. MEMORIAS DE LA V JORNADA MEDICA BIENAL. HOS-
PITAL DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA NUMERO UNO, I.M.S.S.
139. 1972.
- 16.- FRIEDMAN, M.L.; MCELIN, T.W.: DIAGNOSIS OF RUPTURED FE-
TAL MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 104: 544, 1969.
- 17.- GALL, S.A.; SPELLACY, W.N.: CYTOLOGIC DIAGNOSIS OF RUP-
TURED MEMBRANES. OBSTET AND GYNEC. 24: 732, 1964.
- 18.- GOLDFINE, S.: THE DETECTION OF RUPTURED MEMBRANES BY -
VAGINAL SMEAR. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 70: 109, 1955.

- 19.- GUNN, G.C.; MISHELL, D.R.; MORTON, D.G.: PREMATURE - RUPTURE OF THE FETAL MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND -- GYNEC. 106: 469, 1970.
- 20.- HOPMAN, B.C.: A METHOD FOR THE DETECTION OF RUPTURED MEMBRANES THROUGH EXAMINATION OF VAGINAL CYTOLOGY; - AM. J. OBSTET AND GYNEC. 63: 1342, 1952.
- 21.- HOPMAN, B.C.; WARGO, J.D.; WERCH, S.C.: CYTOLOGY OF- VERNIX CASEOSA CELLS. OBSTET AND GYNEC. 10: 656, 1957.
- 22.- HOYES, A.D.: ULTRASTRUCTURE OF THE CELLS OF THE - - AMNIOTIC FLUID. J. OBSTET. GYNAEC. BRIT. CWLTH. 75:- 164, 1968.
- 23.- HUISJES, H.J.: CYTOLOGIC FEATURES OF LIQUOR AMNII .- ACTA CYTOL. 12: 42, 1968.
- 24.- HUISJES, H.J.: ORIGIN OF THE CELLS IN THE LIQUOR -- AMNII. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 106: 1222, 1970.
- 25.- KING, A.G.: THE DETERMINATION OF RUPTURE OF THE MEM- BRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 30: 860, 1935.
- 26.- KNOX, J.C.; HOERNER, J.K.: THE ROLE OF INFECTION IN- PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND -- GINEC 59: 190, 1950.
- 27.- KOVACS, D.: CRYSTALLIZATION TEST FOR THE DIAGNOSIS - OF RUPTURED MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 83:- 1257, 1962.
- 28.- LANGREDER, V.W.: DER BLASENSPRUNGNACHWEIS UND SEINE- PROBLEME. GYNAECOLOGIA. 145: 257, 1958.

- 29.- LANIER, L.R.; SCARBROUGH, R.W.; FILLINGIM, D.W.; --
BAKER, R.E.: INCIDENCE OF MATERNAL AND FETAL COMPLIC-
ATIONS ASSOCIATED WITH RUPTURE OF THE MEMBRANES BEFORE
ONSET OF LABOR. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 93: 398, --
1965.
- 30.- LEBHERZ, T.B.; HELLMAN, L.M.; MADDING, R.; ANCTIL, A.;
ARJE, S.L.: DOUBLE - BLIND STUDY OF PREMATURE RUPTURE
OF THE MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 87: 218, --
1963.
- 31.- MARTINEZ, M.N.: CRISTALIZACION DEL MOCO CERVICAL. --
ESTUDIO SOBRE LA ESTERILIDAD. 12: 75, 1961.
- 32.- RAMIREZ, C.G.; FERIA, V.A.; REYES, P.R.; SEPTIEN, J.:
RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS. GINEC. OBSTET. MEX. --
38: 21, 1975.
- 33.- RINCON, C.R.; GUERRERO, B.C.; GUITRON, C.A.: EL MOCO-
CERVICAL DE LA MUJER EMBARAZADA CRISTALIZA.?GINEC. --
OBSTET. MEX. 37: 219, 1975.
- 34.- RUSSELL, K.P.; ANDERSON, G.V.: THE AGRESSIVE MANAGE-
MENT OF RUPTURED MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC.-
83: 930, 1962.
- 35.- SACKS, M.; BAKER, T.H.: SPONTANEOUS PREMATURE RUPTURE
OF THE MEMBRANES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 97: 888, --
1967.
- 36.- SCHUMAN, W.: DOUBLE SAC WITH SECONDARY RUPTURE OF THE
BAG OF WATERS DURING LABOR. A CLINICAL ENTITY, AND --
ITS EXPLANATION FROM EXAMINATION OF THE MEMBRANES. AM.
J. OBSTET AND GYNEC. 62: 633, 1951.
- 37.- SMITH, R.P.: A TECHNIC FOR THE DETECTION OF RUPTURE --
OF THE MEMBRANES. OBSTET AND GYNECOL. 48: 172, 1976.

- 38.- TRICOMI, V.; HALL, J.E.; BITTAR, A.; CHAMBERS, D.: -
ARBORIZATION TEST FOR THE DETECTION OF RUPTURED FETAL
MEMBRANES. OBSTET AND GYNECOL. 27: 275, 1966.
- 39.- VOTTA, R.A.; GAGNETEN, C.B.; PARADA, O.; GIULIETTI, -
M.: CYTOLOGIC STUDY OF AMNIOTIC FLUID IN PREGNANCY. -
AM. J. OBSTET AND GYNEC. 102: 571, 1968.
- 40.- WIDEMAN, G.L.; BAIR, G.M.; BALDING, O.T.: ASCORBIC --
ACID DEFICIENCY AND PREMATURE RUPTURE OF FETAL MEMBRA
NES. AM. J. OBSTET AND GYNEC. 88: 592, 1964.