

## Invasión microbiana de la cavidad amniótica en la rotura de membranas de pretérmino. Resultados maternoneonatales y patología placentaria según microorganismo aislado

Alfredo Ovalle S<sup>1</sup>, Ricardo Gómez M<sup>3</sup>,  
M. Angélica Martínez T<sup>2</sup>, Elena Kakarieka W<sup>4</sup>,  
Ariel Fuentes G<sup>1</sup>, Carlos Aspillaga M<sup>1</sup>, Pedro Ferrand M<sup>1</sup>,  
Carlos Ramírez F<sup>1</sup>.

### *Outcome of microbial invasion of amniotic cavity in the preterm premature rupture of membranes*

**Background:** Microbial invasion of amniotic cavity occurs in 30 to 50% of patients with premature membrane rupture. **Aim:** To determine the outcomes associated with microbial invasion of the amniotic cavity (MIAC) in patients with preterm premature rupture of membrane (pPROM). **Patients and methods:** One hundred thirty four patients with preterm pPROM between 24 and 34 weeks of pregnancy, without clinical infection or labor, were studied. Cultures were obtained by transabdominal amniocentesis from the amniotic fluid and the lower genital tract. Four groups of MIAC were observed: MIAC1: due to *S. agalactiae*, *F. nucleatum* or *H. influenzae* as only etiologic agents, MIAC2: due to other bacteria, alone or mixed, MIAC3: due to *U. urealyticum* as only etiologic agent, MIAC0: No MIAC and no infection of the lower genital tract. Study patients received antibiotics and were managed expectantly until 35 weeks unless clinical chorioamnionitis developed or an amniotic fluid culture returned positive for *S. agalactiae*, *F. nucleatum* or *H. influenzae*. **Results:** Ninety six patients were enrolled: MIAC1 (n=11), MIAC2 (n=30), MIAC3 (n=19) and MIAC0 (n=36). Clinical chorioamnionitis was more common in patients with MIAC1 than those with MIAC3 ( $p<0.01$ ) and those without infection ( $p<0.001$ ). The admission to delivery interval was shorter in patients with MIAC1 (2.8 days) than those with MIAC3 (10.1 days,  $p<0.05$ ) and those without infection (18 days,  $p<0.001$ ). Delivery within 48 h and within 7 days of admission were also more frequent in patients with MIAC1 than in patients with MIAC3 ( $p<0.05$ ) or those without infection ( $p<0.001$ ). Newborns to mothers with MIAC1 had a higher frequency of

---

Correspondencia a: Alfredo Ovalle Salas. Servicio de Obstetricia, Ginecología y Neonatología, Hospital San Borja Arriarán. Santa Rosa 1234. Santiago, CHILE. Fax 56 2 2327565. E-mail: aovalle@hotmail.com

infection (36%), asphyxia (36%), admission to neonatal ICU (100%) and death (46%) than those of mothers with MIAC3 and those without infection. Birth weight was also significantly lower. Histological chorioamnionitis was more common in patients with MIAC1 than in patients with MIAC3 and those without infection. The rate of funisitis was higher in patients with MIAC1 than those without infection. **Conclusions:** In patients with preterm PROM, microbial invasion of the amniotic cavity by *S. agalactiae*, *F. nucleatum* or *H. influenzae* is associated with high frequency of adverse maternal and neonatal outcomes and neonatal death (Rev Méd Chile 2005; 133: 51-61).

**(Key-words:** Amniotic fluid; Fetal membranes, premature rupture; Labor complications; Premature birth)

Recibido el 16 de julio, 2004. Aceptado en versión corregida el 22 de noviembre, 2004.

<sup>1</sup>Servicio y Departamento de Obstetricia, Ginecología y Neonatología, Hospital San Borja Arriarán. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

<sup>2</sup>Centro de Diagnóstico e Investigaciones Perinatales (CEDIP), Maternidad Hospital Sótero del Río

<sup>3</sup>Programa de Microbiología, I.C.B.M. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

<sup>4</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital San Borja Arriarán.  
Financiamiento Laboratorio Pharmacia&Upjohn.

La invasión microbiana de la cavidad amniótica (IMCA) se presenta entre 30 y 50% de las pacientes con rotura prematura de membranas del embarazo de pretérmino<sup>1,2</sup>.

Las consecuencias de la infección intrauterina (corioamnionitis clínica, corioamnionitis histológica y aumento de citoquinas intraamnióticas), en la mayoría de los estudios, se asocian con morbilidad materna, sepsis, bronconeumonía y muerte neonatal y, en algunos casos, con daños neurológicos (leucomalacia periventricular, hemorragia intraventricular, parálisis cerebral), enfermedad crónica pulmonar y enterocolitis necrotizante de los niños<sup>3-6</sup>. La correlación con el déficit visual y cognitivo es incierta o desconocida.

Los beneficios del tratamiento antibiótico en las pacientes con IMCA (en los pocos estudios publicados) son limitados. No se reduce la bacteremia materna, la sepsis ni la muerte neonatal. Sólo existe una tendencia a la disminución de la endometritis puerperal<sup>7</sup>.

El *Streptococcus agalactiae*, se ha aislado frecuentemente en la IMCA de embarazadas con ruptura prematura de membranas (RPM) de pretérmino y representa, actualmente, la etiología más frecuente de meningitis y sepsis neonatal, no obstante las medidas incorporadas de profilaxis antibiótica intraparto<sup>8,9</sup>. Del mismo modo, *Haemophilus influenzae* y *Fusobacterium nucleatum*, también aisladas desde la cavidad amniótica, han demostrado producir efectos adversos en el parto

prematuro<sup>1,10</sup>. Sin embargo, los mecanismos involucrados en la infección/inflamación producidos por las diferentes bacterias que infectan la cavidad amniótica y que llevan a resultados adversos perinatales, están comprendidos parcialmente. Se requiere, por lo tanto, mejorar el estudio de todos los microorganismos involucrados en la IMCA de esta condición patológica del embarazo y entender adecuadamente la respuesta inmune del huésped.

El objetivo de este trabajo fue conocer los resultados maternos-neonatales y la patología placentaria asociados con las diferentes bacterias aisladas en la IMCA de la paciente con rotura prematura de membranas de pretérmino.

#### MATERIAL Y MÉTODO

**Criterios de selección de pacientes.** Entre noviembre de 1994 y diciembre de 2002, embarazadas entre 24 y 34 semanas de gestación con el diagnóstico de rotura prematura de membranas fueron invitadas a participar en este trabajo. La Figura 1 muestra el diagrama de flujo que describe el proceso de enrolamiento de pacientes. A fin de conocer los efectos de las diferentes bacterias en los resultados del embarazo, se incluyeron las pacientes con IMCA y las mujeres sin infección cérvico-vaginal y sin IMCA.

La rotura de membranas fue clínicamente documentada visualizando pérdida evidente de líquido amniótico a través del orificio cervical con

Pacientes elegidas	=	864
Pacientes no enroladas	=	730
Pacientes enroladas	=	134
Pacientes excluidas	=	38
Cumplieron criterios de selección	=	96

FIGURA 1. Diagrama de flujo de pacientes enroladas.

espéculo estéril o empleando la prueba de la nitrazina. Se incorporaron sólo pacientes admitidas durante la mañana de los días de semana, por razones técnicas del estudio microbiológico.

El Comité de Ética del establecimiento aprobó la realización de este trabajo. Se obtuvo consentimiento informado de cada paciente participante. Las placentas se enviaron a estudio histológico.

La edad gestacional se determinó por la historia menstrual, cuando fue confiable, examen pélvico en el primer trimestre, de acuerdo a la extensión de la amenorrea o biometría fetal ultrasonográfica antes de las 24 semanas. Se hizo evaluación de la dilatación cervical y se tomaron muestras cervicales y vaginales para cultivo durante el examen con espéculo. No se hizo examen vaginal digital durante la admisión. Todas las pacientes tuvieron ultrasonografía obstétrica para biometría fetal y evaluación de líquido amniótico.

*Los criterios de exclusión:* fueron casos con infección del tracto genital inferior y sin IMCA, trabajo de parto, uso de antibióticos durante los 30 días previos a la inclusión, hemorragia genital significativa, desprendimiento prematuro de placenta, malformación o muerte fetal, anomalías uterinas, sufrimiento fetal, presencia de dispositivo intrauterino, gestación múltiple, infección ovular clínica (corioamnionitis clínica), infección extrauterina incluyendo pielonefritis, enfermedad médica materna que determinase interrupción de la gestación, restricción del crecimiento fetal intrauterino (< del percentil 10 para la edad gestacional)<sup>11</sup>.

*Estudio microbiológico.* Se obtuvieron muestras cérvico-vaginales, endocervicales y de líquido amniótico para estudio microbiológico. Después de efectuar la tinción de Gram y un frotis para el diagnóstico de *C*

*trachomatis* por inmunofluorescencia directa (IFD), las muestras cérvico-vaginales fueron colocadas en medio de Stuart y 2 SP (sacarosa fosfato) para la identificación de *S agalactiae*, micoplasmas urogenitales y otras bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas<sup>12-15</sup>. Se realizó recuento de leucocitos polimorfonucleares, al examen microscópico al fresco de la muestra endocervical<sup>1</sup>.

La muestra de líquido amniótico, obtenida por amniocentesis transabdominal, fue inoculada en medios tioglicolato prerreducido y en 2 SP. La muestra restante, se envió al laboratorio en una jeringa con cubierta estéril, inmediatamente después de su recolección. Los cultivos para bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas y estrictas, así como para micoplasmas urogenitales, fueron realizados de acuerdo a métodos previamente descritos<sup>14-17</sup>.

El diagnóstico microbiológico de vaginosis bacteriana fue efectuado mediante la evaluación de la tinción de Gram del flujo vaginal, según el método propuesto por Nugent y cols<sup>18</sup>.

Invasión microbiana de la cavidad amniótica fue definida por el cultivo positivo del líquido amniótico<sup>19</sup>. Infección cervicovaginal (ICV) se consideró según los siguientes criterios: a) presencia de vaginosis bacteriana o b) cultivo positivo para bacteria patógena o bacteria facultativa en cérvix o vagina (excepto por *Lactobacillus*), asociado con incremento de leucocitos polimorfonucleares sobre 10 por campo al examen microscópico directo (400x)<sup>1,20</sup>.

Se crearon cuatro grupos de pacientes según los hallazgos microbiológicos de la IMCA: IMCA1 (infección por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias), IMCA2 (infección por otras bacterias únicas o asociadas), IMCA3 (infección por *U urealyticum* como única bacteria) e IMCA0 (sin IMCA y sin ICV). La racionalidad de esta división está basada en los resultados obtenidos por nosotros y comunicados en publicaciones anteriores<sup>1,10</sup>.

*Manejo de las pacientes.* Las pacientes recibieron antibióticos inmediatamente después de la obtención de las muestras microbiológicas. Se manejaron en forma expectante hasta las 35 semanas de embarazo, a menos que apareciera IMCA (por *Streptococcus agalactiae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *Fusobacterium nucleatum*), infección ovular clínica (corioamnionitis clínica), sufrimiento fetal, prolapso de cordón o desprendimiento prematuro de placenta. Para la

vigilancia fetal, se realizó monitorización electrónica de la frecuencia cardíaca fetal, perfil biofísico fetal, hemograma, proteína C reactiva y cultivos de líquido amniótico y endocervical semanales.

Infección ovular clínica o corioamnionitis clínica fue definida según los criterios de Gibbs y asociados<sup>21</sup>. El diagnóstico requirió elevación de la temperatura axilar a 37,8°C o más, acompañado de dos de los siguientes criterios: hipersensibilidad uterina, secreción vaginal fétida, taquicardia materna y fetal y leucocitos >15.000 células/mm<sup>3</sup>.

Se definió endometritis puerperal como la elevación de la temperatura axilar a 38°C o más, en dos tomas (separadas por más de 4 horas), con sensibilidad uterina y loquios turbios de mal olor y sin otra causa aparente de infección<sup>21</sup>. A las pacientes con infección ovular clínica se les indicó el parto y administración de clindamicina-gentamicina. Las mujeres con endometritis puerperal recibieron similar asociación de antimicrobianos. No se usaron tocolíticos. No se usaron esteroides para inducción de madurez pulmonar.

*Dosis y administración de antibióticos.* Las pacientes recibieron los siguientes antimicrobianos: clindamicina 600 mg intravenosamente cada 8 h por 48 h y gentamicina 4 mg/kg/día intravenosamente en una dosis por 48 h. Luego se continuó con clindamicina 300 mg cada 6 h oral por 5 días y gentamicina 2 mg/kg/día intramuscular en una dosis por 5 días. La utilidad de este esquema está demostrada en publicación anterior nuestra<sup>22</sup>.

*Manejo del recién nacido.* Se advirtió a los neonatólogos del estado microbiológico de la cavidad amniótica y del tratamiento antibiótico recibido. Todos los neonatos bajo 2.000 g recibieron ampicilina y amikacina intravenosa, luego de tomarse los exámenes de laboratorio: hemocultivos, proteína C reactiva, hemograma y cultivos microbiológicos periféricos y de contenido gástrico. Los antibióticos se discontinuaron en ausencia de elementos clínicos de infección y con exámenes de laboratorio negativos. Las siguientes variables se analizaron durante la primera semana de vida: infección severa (bronconeumonía, sepsis, enterocolitis necrotizante), síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia intraventricular y asfixia severa. Sepsis se diagnosticó cuando el niño presentó cuadro multisistémico clínicamente compatible con infec-

ción y con hemocultivos positivos. Bronconeumonía se diagnosticó con cuadro clínico y radiológico compatibles. Enterocolitis necrotizante se diagnosticó frente a cuadro clínico y radiológico de abdomen compatibles y comprobación por cirugía o necropsia. Síndrome de dificultad respiratoria (SDR) se definió como el cuadro clínico compatible, con requerimientos de O<sub>2</sub> sobre FiO<sub>2</sub> 0.40, gases arteriales alterados y documentado con radiología compatible. Hemorragia intraventricular se definió como el cuadro clínico neurológico, documentado por hallazgos ultrasonográficos. Asfixia severa se consideró cuando el neonato presentó test de Apgar de 3 puntos o menos a los 5 minutos.

*Estudio histológico placentario.* El examen histopatológico fue realizado por un sólo patólogo (E.K.), que estuvo ciego a la información clínica y microbiológica. Se estudiaron los siguientes marcadores histológicos de infección intrauterina ascendente: corioamnionitis (presencia de leucocitos polimorfonucleares que infiltran las membranas fetales, amnios y corion con o sin necrosis) y funisitis (inflamación aguda del cordón umbilical, caracterizado por infiltración de leucocitos polimorfonucleares en la pared de los vasos umbilicales y gelatina de Warthon)<sup>23-28</sup>.

*Expresión de resultados.* Se determinó la morbilidad infecciosa materna (infección ovular clínica - endometritis puerperal), la duración del intervalo admisión-parto (días) y la frecuencia de partos dentro de las 48 h y 7 días desde la admisión. En el neonato se determinó el peso al nacer, infección (sepsis, bronconeumonía, enterocolitis necrotizante), asfixia severa, síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia intraventricular, patología neonatal crónica, muerte y admisión y permanencia en la unidad de cuidados intensivos. En la patología placentaria se midieron los marcadores de infección intrauterina ascendente. A fin de conocer los efectos de las diferentes bacterias, todas estas variables se analizaron en relación a los 4 grupos creados.

*Análisis estadístico de los datos.* Se usó test de chi cuadrado y test exacto de Fisher en la comparación de proporciones; Test de Student o test de Mann-Whitney o Anova en la comparación de variables continuas y análisis de covarianza para ajustar datos según edad gestacional al ingreso.

Para verificar la distribución normal de las variables continuas, se empleó el test de Kolmogorov. Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado significativo.

### RESULTADOS

**Características de la población.** Ciento treinta y cuatro pacientes fueron enroladas en el estudio. Se excluyeron treinta y ocho pacientes: un caso con malformación uterina, una paciente con dispositivo intrauterino, un caso con falla en la obtención de líquido amniótico, una mujer con infección ovular clínica inadvertida (fiebre que se advirtió durante la amniocentesis), un caso con edad gestacional <24 semanas, corregida posteriormente, dos casos letales de malformación fetal y 31 casos con ICV y sin IMCA.

Noventa y seis pacientes cumplieron con los criterios del estudio: IMCA1 (n=11), IMCA2 (n=30), IMCA3 (n=19) e IMCA0 (n=36).

En la Tabla 1 se describen las características generales de la población en estudio. No hubo diferencias entre los grupos en edad materna, paridad, edad gestacional al ingreso y modo del parto.

**Microbiología.** Las bacterias más frecuentemente aisladas del líquido amniótico fueron *Ureaplasma urealyticum* (41 casos: 22 IMCA2, 19 IMCA3), *Gardnerella vaginalis* (12 casos IMCA2), *Streptococcus agalactiae* (8 casos: 5 IMCA1, 3 IMCA2), *Mycoplasma hominis* (6 casos IMCA2), *Haemophilus influenzae* (5 casos: 3 IMCA1, 2 IMCA2), *Fusobacterium nucleatum* (5 casos: 3 IMCA1, 2 IMCA2), *Peptostreptococcus sp* (4 casos IMCA2) y *Streptococcus viridans* (4 casos IMCA2) (Tabla 2).

**Resultados maternos.** La morbilidad infecciosa materna (corioamnionitis clínica y endometritis puerperal) fue significativamente mayor en las pacientes con IMCA1 que con IMCA3 [45,5% (5/11) vs 0% (0/19) ]  $p < 0,01$  y que IMCA0 [45,5% (5/11) vs 0% (0/21)]  $p < 0,001$ . No hubo diferencias significativas entre IMCA2 e IMCA1 y entre IMCA2 e IMCA3.

**Resultados del embarazo.** El intervalo admisión-parto fue más breve en las pacientes con IMCA1 (media: 2,8 días) e IMCA2 (media 6,2 días) que con IMCA3 (media 10,1 días  $p < 0,05$ ) y que IMCA0 (media 18 días  $p < 0,0001$ ). También fue más breve

**Tabla 1. Características de la población en estudio según microorganismo(s) aislado(s) de la cavidad amniótica**

	IMCA 1 n=11	IMCA 2 n=30	IMCA 3 n=19	IMCA 0 n=36	p
Edad materna (años)					
Media (DS)	25,8 (6,4)	28,4 (7,2)	28,6 (6,3)	31,5 (6,4)	NS
Rango	17-37	18-43	18-40	16-40	
Paridad					
Nulípara	5 (45,5%)	11 (36,7%)	7 (36,8%)	6 (16,7%)	NS
Múltipara	6 (54,5%)	19 (63,3%)	12 (63,2%)	30 (83,3%)	
Edad gestacional ingreso (s)					
Media (DS)	28,2 (2,4)	29,2 (2,7)	30,1 (2,3)	30,2 (2,3)	NS
Rango	25,5-31,4	25,5-34,0	26-34,0	26,0-33,4	
Tipo de parto					
Vaginal	5 (45,5%)	20 (66,7%)	8 (42,1%)	18 (50,0%)	NS
Cesárea	6 (54,5%)	10 (33,3%)	11 (57,9%)	18 (50,0%)	

IMCA1: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias

IMCA2: invasión microbiana de la cavidad amniótica por otras bacterias únicas o asociadas

IMCA3: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *U urealyticum* como única bacteria

IMCA0: sin IMCA y sin infección del tracto genital inferior.

en pacientes con IMCA1 (media 2,8 días) que con IMCA2 (media 6,2 días,  $p < 0,05$ ). No hubo diferencias significativas entre IMCA2 e IMCA3.

Los partos dentro de las 48 h y dentro de los 7 días desde la admisión fueron significativamente más frecuentes en las pacientes con IMCA1 que

con IMCA3 [63,6% (7/11) y 90,9% (10/11) vs 21,1% (4/19) y 52,6% (10/19) respectivamente ( $p < 0,05$ )] y que IMCA0 [63,6% (7/11) y 90,9% (10/11) vs 2,8% (1/36) y 13,9% (5/36) respectivamente ( $p < 0,0001$ )]. No hubo diferencias significativas entre IMCA2 e IMCA1 y entre IMCA2 e IMCA3 (Tabla 3).

**Tabla 2. Microorganismos aislados en pacientes con invasión microbiana de la cavidad amniótica**

	IMCA 1 n=11	IMCA 2 n=30	IMCA 3 n=19	Total
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0	22	19	41
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0	12	0	12
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5	3	0	8
<i>Mycoplasma hominis</i>	0	6	0	6
<i>Haemophilus influenzae</i>	3	2	0	5
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	3	2	0	5
<i>Peptostreptococcus sp</i>	0	4	0	4
<i>Streptococcus viridans</i>	0	4	0	4
<i>Prevotella sp</i>	0	3	0	3
<i>Staphylococcus coagulasa (-)</i>	0	2	0	2
<i>Enterococcus sp</i>	0	2	0	2
<i>Bacteroides fragilis</i>	0	1	0	1
<i>Proteus mirabilis</i>	0	1	0	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0	1	0	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	1	0	1
<i>Candida albicans</i>	0	1	0	1
<i>Streptococcus sp</i>	0	1	0	1

IMCA1: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias.

IMCA2: invasión microbiana de la cavidad amniótica por otras bacterias únicas o asociadas.

IMCA3: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *U urealyticum* como única bacteria.

**Tabla 3. Intervalo admisión - parto, frecuencia de partos <48 h y <7 días desde la admisión, según microorganismo(s) aislado(s) de la cavidad amniótica**

	IMCA 1 n=11	IMCA 2 n=30	IMCA 3 n=19	IMCA 0 n=36	p
Intervalo admisión - parto (d) Media (DS)	2,8 (3,3)	6,2 (7,1)	10,1 (9,5)	18,0 (10,7)	<0,0001
Parto <48 horas desde admisión	7 (63,6%)	11 (36,7%)	4 (21,1%)	1 (2,8%)	<0,0001
Parto <7 días desde admisión	10 (90,9%)	22 (73,3%)	10 (52,6%)	5 (13,9%)	<0,0001

IMCA1: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias.

IMCA2: invasión microbiana de la cavidad amniótica por otras bacterias únicas o asociadas.

IMCA3: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *U urealyticum* como única bacteria.

IMCA0: sin IMCA y sin infección del tracto genital inferior.

La gestación se interrumpió en tres casos de desprendimiento prematuro de placenta. En las embarazadas con infección intraamniótica por *Streptococcus agalactiae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *Fusobacterium nucleatum* y con infección ovular clínica (corioamnionitis clínica), el parto se desencadenó espontáneamente en todos los casos y antes de poder efectuar cualquier intervención.

**Resultados neonatales.** Los neonatos de madres con IMCA1 tuvieron mayor frecuencia de infección (bronconeumonía, sepsis y enterocolitis necrotizante), asfixia severa, admisión a UCI y muerte, que aquéllos cuyas madres tuvieron IMCA3: infección [36,4% (4/11) vs 5,3% (1/19)] p=0,03; asfixia severa [36,4% (4/11) vs 0% (0/19)] p<0,001; admisión a UCI [100% (11/11) vs 63,2% (12/19)] p=0,03 y muerte [45,5% (5/11) vs 5,3% (1/19)] p=0,03 y que aquéllos con IMCA0: infección [36,4% (4/11) vs 0% (0/36)] p=0,002; asfixia severa [36,4% (4/11) vs 0% (0/36)] p=0,002; admisión a UCI [100,0% (11/11) vs 47,2% (17/36)] p=0,007 y muerte [45,5% (5/11) vs 0% (0/36)] p<0,001. La frecuencia de muerte neonatal fue significativamente mayor en IMCA1 45,5% (5/11) que en IMCA2 10% (3/30) p<0,05. IMCA2 no presentó diferencias significativas con IMCA3. En infección y asfixia no hubo diferencias significativas entre IMCA2 e IMCA1 y entre IMCA2 e IMCA3. Los neonatos de madres con IMCA2 tuvieron mayor

frecuencia de admisión a UCI 93% (28/30) que con IMCA3 63,2% (12/19) p<0,05.

El peso al nacer fue significativamente menor en las embarazadas con IMCA1 que con IMCA3 (media 1.299 g ± 369 g vs 1.869 g ± 430) p=0,004 y que con IMCA0 (media 1.299 g ± 369 g vs 2.116 g ± 400) p <0,0001. También el peso fue significativamente menor en las madres con IMCA2 que con IMCA3 (media 1556 g ± 482 g vs 1.869 g ± 430) p <0,05. No hubo diferencias significativas entre IMCA1 e IMCA2.

La frecuencia de síndrome de dificultad respiratoria y de hemorragia intraventricular luego de ajustar resultados por edad gestacional al ingreso, no fue diferente entre los grupos.

La patología postneonatal crónica se presentó sólo en el grupo IMCA2 y en 4 casos. Tres niños con leucomalacia periventricular (*H influenzae-U urealyticum*), (*F nucleatum-G vaginalis-Prevotella sp*) y (*M hominis-U urealyticum-G vaginalis*) y un niño con displasia broncopulmonar (*S agalactiae- U urealyticum-P mirabilis*).

Hubo 9 muertes neonatales (7 atribuibles a causa infecciosa y 2 por patologías no infecciosas). Grupo con IMCA1: *S agalactiae* (3 casos), *F nucleatum* (2 casos); con IMCA2: tres casos (2 de ellos con *S agalactiae* y el tercero con *H influenzae* asociados a otras bacterias) y 1 caso en paciente con IMCA3. Cuatro casos con sepsis y bronconeumonía y tres casos con bronconeumonía (Tablas 4 y 5).

**Tabla 4. Resultados neonatales según microorganismo(s) aislado(s) de la cavidad amniótica**

	IMCA 1 n=11	IMCA 2 n=30	IMCA 3 n=19	IMCA 0 n=36	p
Infección severa	4 (36,4%)	5 (16,7%)	1 (5,3%)	0	= 0,003
Asfixia severa	4 (36,4%)	3 (10,0%)	0	0	< 0,0001
Síndrome de dificultad respiratoria	5 (45,5%)	3 (10,0%)	1 (5,3%)	6 (16,7%)	NS*
Hemorragia intraventricular	3 (27,3%)	3 (10,0%)	2 (10,5%)	0	NS*
Muerte neonatal	5 (45,5%)	3 (10,0%)	1 (5,3%)	0	< 0,0001

IMCA1: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias

IMCA2: invasión microbiana de la cavidad amniótica por otras bacterias únicas o asociadas.

IMCA3: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *U urealyticum* como única bacteria.

IMCA0: sin IMCA y sin infección del tracto genital inferior.

\*Ajustado según edad gestacional al ingreso.

**Tabla 5. Resultados neonatales según microorganismo(s) aislado(s) de la cavidad amniótica**

	IMCA 1 n=11	IMCA 2 n=30	IMCA 3 n=19	IMCA 0 n=36	p
Peso neonatal (g)					
Media (DS)	1.299 (369)	1.556 (482)	1.869 (430)	2.116 (400)	<0,0001
Rango	850-1.750	800-2.610	1.226-2.790	1.350-2.850	
Admisión a unidad de cuidado intensivo	11 (100,0%)	28 (93,3%)	12 (63,2%)	17 (47,2%)	<0,0001
Permanencia UCI (días)					
Media (DS)	21,2 (31,0)	10,0 (10,8)	8,6 (8,3)	5,5 (4,6)	NS
Rango	1-106	1-42	1-22		

IMCA1: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias.

IMCA2: invasión microbiana de la cavidad amniótica por otras bacterias únicas o asociadas.

IMCA3: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *U urealyticum* como única bacteria.

IMCA0: sin IMCA y sin infección del tracto genital inferior.

**Tabla 6. Histopatología de la placenta según microorganismo(s) aislado(s) de la cavidad amniótica**

	IMCA 1 n=11	°IMCA 2 n=25	IMCA 3 n=19	°°IMCA 0 n=24	p
Corioamnionitis	11 (100,0%)	22 (88,0%)	10 (52,6%)	4 (16,7%)	<0,0001
Funisitis	7 (63,6%)	20 (80,0%)	7 (38,9%)	1 (4,2%)	<0,0001
Sin lesión	0	1 (4,0%)	4 (22,2%)	11 (45,8%)	<0,0001

IMCA1: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae* o *F nucleatum* o *H influenzae* como únicas bacterias.

IMCA2: invasión microbiana de la cavidad amniótica por otras bacterias únicas o asociadas.

IMCA3: invasión microbiana de la cavidad amniótica por *U urealyticum* como única bacteria.

IMCA0: sin IMCA y sin infección del tracto genital inferior.

Se excluyen °5 y °°12 casos, placentas no estudiadas.

*Patología placentaria.* Se excluyeron 17 casos de placentas no estudiadas (5 IMCA2, y 12 del grupo IMCA0). La corioamnionitis se presentó más frecuentemente en las embarazadas con IMCA1 que con IMCA3 [100,0% (11/11) vs 52,6% (10/19)] p<0,01 y que con IMCA0 [100,0% (11/11) vs 16,7% (4/24)] p<0,0001. La funisitis se presentó más frecuentemente en las embarazadas con IMCA1 que con IMCA0 63,6% (7/11) vs 4,2% (1/24)] p<0,001. La corioamnionitis y funi-

sitis se presentaron más frecuentemente en las pacientes con IMCA2 que con IMCA3: corioamnionitis 88% (22/25) vs 52,6% (10/19) respectivamente p<0,05; funisitis 80% (20/25) vs 38,9% (7/19) respectivamente p<0,01. Las placentas sin lesiones se presentaron más frecuentemente en el grupo con IMCA0 [45,8% (11/24)] que con IMCA1 [0%(0/11)] p<0,01. No hubo diferencias significativas entre IMCA2 e IMCA1 y entre IMCA2 e IMCA3. Tabla 6.



## DISCUSIÓN

Este estudio demuestra que en la rotura prematura de membranas del embarazo de pretérmino, las pacientes con invasión microbiana de la cavidad amniótica por *S agalactiae*, *F nucleatum* o *H influenzae* como agentes etiológicos únicos, representan los casos con resultados adversos materno neonatales más frecuentes y de mayor severidad.

La morbilidad infecciosa materna (corioamnionitis clínica y endometritis puerperal), los partos dentro de las 48 h y 7 días desde la admisión, así como los resultados neonatales encontrados en este trabajo, infección (bronconeumonía, sepsis y enterocolitis necrotizante), asfixia severa, admisión a UCI, fueron significativamente más frecuentes y severos (46% de mortalidad neonatal) y el intervalo admisión-parto fue más breve, cuando la cavidad uterina estuvo infectada por *S agalactiae*, *F nucleatum* o *H influenzae*, que cuando las pacientes tuvieron infección por *U urealyticum* o cuando no hubo infección. En la patología placentaria los marcadores histológicos de infección ascendente aguda, corioamnionitis y funisitis también fueron significativamente más frecuentes en las embarazadas con IMCA por estas bacterias de mayor agresividad que en los otros grupos.

La IMCA debida a otras bacterias, únicas o asociadas, principalmente por *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma hominis*, *Haemophilus influenzae*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus sp*, *Streptococcus viridans* y otras, también se asoció con resultados adversos materno neonatales, pero su frecuencia y severidad no fue diferente con el grupo infectado por *U urealyticum*.

*Ureaplasma urealyticum* se ha asociado con parto prematuro y la colonización del tracto respiratorio del niño por esta bacteria, se ha asociado con el desarrollo de enfermedad crónica pulmonar<sup>29,30</sup>. Sin embargo, cuando está presente en la cavidad amniótica como única bacteria etiológica, es menos frecuente su asociación con otros resultados adversos, como se ha encontrado en este trabajo independientemente el uso de antimicrobianos de amplio espectro.

Se sabe que la IMCA, produce en el feto aumento de citoquinas, entre otros mediadores inflamatorios, que conduce a una injuria orgánica multisistémica asociada con rápida morbimortalidad neonatal, y en algunos casos, con daños neurológicos posteriores (leucomalacia periventricular, hemorragia intraventricular, parálisis cerebral), enfermedad crónica pulmonar y enterocolitis necrotizante<sup>3-6</sup>.

Las severas lesiones materno neonatales encontrados en la IMCA por *S agalactiae*, *F nucleatum* o por *H influenzae* en este estudio, permiten plantear la hipótesis que el mayor daño y muerte neonatal podría producirse por la mayor virulencia de estas bacterias y, posiblemente, por incremento de la respuesta fetal inflamatoria asociada con estos microorganismos.

Esta afirmación se puede sostener por los siguientes hallazgos encontrados en este trabajo, que se correlacionan con resultados sobre síndrome de respuesta fetal inflamatoria, publicados en la literatura:

- 1) La corioamnionitis clínica se presentó en la mitad de los casos de IMCA por *S agalactiae*, *F nucleatum* o por *H influenzae* y se ha demostrado que la concentración de Il-6 se eleva en la vena umbilical de recién nacidos cuyas madres tienen corioamnionitis clínica<sup>31</sup>.
- 2) La corioamnionitis histológica apareció en todas las placentas y la funisitis se presentó en 64% de las embarazadas con estas bacterias virulentas. Se ha demostrado que funisitis y vasculitis coriónica son manifestaciones histológicas del síndrome de respuesta fetal inflamatoria<sup>32</sup>.
- 3) Los partos dentro de las 48 h (64%) y dentro de los 7 días (91%) desde la admisión en las mujeres con IMCA por *S agalactiae*, *F nucleatum* o por *H influenzae*, fueron significativamente más frecuentes que en las pacientes con infección por *U urealyticum* y que en las embarazadas sin infecciones y el intervalo admisión-parto (2,8 días) fue más breve en este grupo con bacterias virulentas. Se sabe que el aumento de la respuesta fetal sistémica de citoquinas proinflamatorias en las pacientes con IMCA y rotura prematura de membranas de pretérmino (RPMPT) es seguido por el desencadenamiento inmediato del parto prematuro<sup>33</sup>.

La presencia de estos microorganismos de mayor agresividad en la cavidad amniótica, probablemente explique el limitado beneficio del tratamiento antibiótico en las pacientes con IMCA (sólo tendencia a la disminución de la endometritis puerperal), reportado en los pocos estudios publicados<sup>7</sup> y a la alta morbilidad infecciosa materno-neonatal e inflamación placentaria encontrada en este trabajo, no obstante el uso de antimicrobianos de amplio espectro.

Los resultados de este estudio sugieren que en la RPMPT, las infecciones intraamnióticas por *S agalactiae*, *F nucleatum* o por *H influenzae* son las más importantes, porque se asocian con alta frecuencia a resultados adversos materno perinatales y a muerte neonatal (46%).

En esta patología del embarazo el estudio microbiológico rutinario de la cavidad amniótica nos permite conocer el microorganismo agresor con su virulencia y determinar el pronóstico fetal.

#### REFERENCIAS

1. OVALLE A, MARTÍNEZ MA, POBLETE JP, FUENTES A, VILLABLANCA E, GÓMEZ R ET AL. Microbiología aislada en la rotura prematura de membranas de pretérmino. Relación con morbilidad infecciosa materna neonatal e intervalo rotura de membranas-parto. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1995; 60: 252-62.
2. GÓMEZ R, GHEZZI R, ROMERO R, MUÑOZ H, TOLOSA J, ROJAS IVÁN. Premature labor and intra-amniotic infection. *Clinics in Perinatology* 1995; 22: 281-342.
3. GÓMEZ R, ROMERO R, GHEZZI F, YOON BH, MAZOR M, BERRY SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 194-202.
4. BRACCI R, BUONOCORE G. Chorioamnionitis: a risk factor for fetal and neonatal morbidity. *Biol Neonate* 2003; 83(2): 85-96.
5. VIGNESWARAN R. Infection and preterm birth: evidence of a common causal relationship with bronchopulmonary dysplasia and cerebral palsy. *J Paediatr Child Health* 2000; 36: 293-6.
6. SCENDEL DE, SCHUCHAT A, THORSEN P. Public health issues related to infection in pregnancy and cerebral palsy. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002; 8: 39-45.
7. HOPKINS L, SMAILL F. Antibiotic regimens for management of intraamniotic infection From *The Cochrane Library*, Issue 2, 2004.
8. KALLIOLA S, VUOPIO-VARKILA J, TAKALA AK, ESKOLA J. Neonatal group B streptococcal disease in Finland: a ten-year nationwide study. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 806-10.
9. MARTÍNEZ MA, OVALLE A, DURAN C, REID I, URRIOLA G, GARAY G ET AL. Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae*. *Rev Méd Chile* 2004; 132: 549-55.
10. MARTÍNEZ MA, OVALLE A, ULLOA MT Y VIDAL R. Role of *Haemophilus influenzae* in intra-amniotic infection in patients with preterm rupture of membranes. *Eur J Clin Microb & Infect Dis* 1999; 18: 890-93.
11. JUEZ G, LUCERO E, VENTURA-JUNCA P, TAPIA JL, WINTER A. Crecimiento intrauterino en recién nacidos chilenos de clase media. *Rev Chil Pediatr* 1989; 60: 198-202.
12. STAMM WE, HARRISON HR, ALEXANDER ER, CLES LD, SPENCE MR, QUINN TC. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections by direct immunofluorescence staining of genital secretions. *Ann Int Med* 1984; 101: 638-41.
13. SMITH TF, WEED LA, PETERSEN GR, SEGURA JW. Recovery of *Chlamydia* and genital mycoplasma transported in sucrose phosphate buffer and urease color test medium. *Health Lab Sci* 1977; 14: 30-4.
14. WANG E, RICHARDSON H. A rapid method for detection of group B streptococcal colonization: testing at the bedside. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 882-5.
15. VILLAGRA E, MARTINEZ MA, OVALLE A. Flora microbiana genital en una población de alto riesgo obstétrico. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1994; 59: 32-8.
16. BALOWS A, HAUSLER W, HERMANN K, ISENBERG H, SHADOMY H. (Eds). *Manual of clinical microbiology*. 5th Ed, 1991 American Society For Microbiology, Washington DC.
17. TAYLOR-ROBINSON D, FURR PM. Recovery and identification of genital tract Mycoplasmas. *Israel J Med Sci* 1981; 17: 648-53.

18. NUGENT R, KROHN M, HILLIER S. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microb* 1991; 29: 297-301.
19. ROMERO R, MAZOR M, MORROTTI R, AVILA C, OYARZUN E, INSUNZA A ET AL. Microbial invasion of the amniotic cavity in spontaneous rupture of membranes at term. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 129-33.
20. MCGREGOR JA, FRENCH JI, JONES W, PARKER R, PATTERSON E, DRAPER D. Association of cervicovaginal infections with increased vaginal fluid phospholipase A2 activity. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 1588-94.
21. GIBBS RS, CASTILLO MS, ROGERS PJ. Management of acute chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136: 109-13.
22. OVALLE A, GÓMEZ R, MARTÍNEZ MA, RUBIO R, FUENTES A, VALDERRAMA O ET AL. Antibiotic therapy in patients with preterm premature rupture of membranes: a prospective, randomized, placebo controlled study with microbiologic assessment of the amniotic cavity and lower genital tract. *Prenatal and Neonatal Medicine*. 1997; 2: 213-22.
23. OVALLE A, MARTÍNEZ MA, KAKARIEKA ME, GÓMEZ R, TORRES J, FUENTES A ET AL. Histopatología de la placenta en la rotura prematura de membranas de pretérmino. Relación con la microbiología aislada y con los resultados maternoneonatales. *Rev Méd Chile* 1998; 126: 911-18.
24. BERNISCHKE K, KAUFMAN P. *Pathology of the human placenta*. Chapter: Histopathological Approach to Villous Alteration p 419-434. Chapter: Infectious diseases p 591-659. New York NY: Springer Verlag NY,Inc; 2001.
25. PERRIN VDK. *Pathology of the Placenta*. Chapter: Placenta as a Reflection of maternal disease p 57-70. New York, Churchill Livingstone Inc; 1984.
26. FOX H. *Pathology of the Placenta*. Chapter: Histological Abnormalities of the Placenta p 149-197. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1978.
27. KEELING JW. *Fetal and Neonatal Pathology*. Chapter: Placenta and Umbilical Cord p 45-67 Spriger-Verlag. Berlin Heidelberg 1987.
28. VAN HOEVEN KH, ANYAEGBUNAM A, HOCHSTER H, WHITTY JE, DISTANT J, CRAWFORD C ET AL. Clinical significance of increasing histologic severity of acute inflammation in the fetal membranes and umbilical cord. *Pediatric Pathology* 1996; 16: 731-44.
29. KAFETZIS DA, SKEVAKI CL, SKOUTERI V, GAVRILI S, PEPPA K, KOSTALOS C ET AL. Maternal genital colonization with ureaplasma urealyticum promotes preterm delivery: association of the respiratory colonization of premature infants with chronic lung disease and increased mortality. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1113-22.
30. AGARWAL P, RAJADURAI VS, PRADEEPKUMAR VK, TAN KW. Ureaplasma urealyticum and its association with chronic lung disease in Asian neonates. *J Paediatr Child Health*. 2000; 36: 487-90.
31. CHAIWORAPONGSA T, ROMERO R, KIM JC, KIM YM, BLACKWELL SC, YOON BH ET AL. Evidence for fetal involvement in the pathologic process of clinical chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 1178-82.
32. PACORA P, CHAIWORAPONGSA T, MAYMON E, KIM YM, GOMEZ R, YOON BH ET AL. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 11: 18-25.
33. ROMERO R, GOMEZ R, GHEZZI F, YOON BH, MAZOR M, EDWIN SS ET AL. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 186-93.