

**MICROORGANISMOS ASOCIADOS A INFECCIÓN INTRA-
AMNIÓTICA Y SU RELACIÓN CON SÍNTOMAS Y SIGNOS
CLÍNICOS DURANTE EL EMBARAZO Y EL PARTO EN MUJERES
CON PARTO-PRÉTERMINO.**

LUIS FELIPE BORDA ARZAYÚS.

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
BOGOTÁ DC., OCTUBRE 2015**

Hoja de identificación

Universidad	El Bosque
Facultad (y programa de posgrado)	Ginecología y Obstetricia.
Título:	Microorganismos asociados a infección intra-amniótica y su relación con síntomas y signos clínicos durante el embarazo y el parto en mujeres con parto-prétermino.
Línea de Investigación:	Ginecología y Obstetricia.
Institución participante:	Universidad El Bosque Facultad de Ginecología y Obstetricia. Facultad de Odontología Unidad de Investigación Básica Oral (U.I.B.O)
Tipo de investigación:	Docente-Postgrado
Investigador principal:	Dr. Daniel Montenegro Escovar.
Co-investigadores y residente:	Dr. Luis Felipe Borda Arzayús.
Asesor metodológico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil
Asesor clínico/temático:	Dr. Daniel Montenegro Escovar.
Asesor estadístico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil

Nota de salvedad de responsabilidad institucional

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”

Agradecimientos.

Quiero agradecer al doctor Daniel Montenegro, Gloria Lafaurie, Luz Amparo Gómez, Yineth Neuta, por el acompañamiento y la docencia brindada. De igual manera quiero agradecer al grupo del laboratorio UIBO por el aporte microbiológico y tecnológico indispensable para la realización de éste trabajo. Finalmente un agradecimiento muy especial a mi hermano mayor Andrés Felipe Borda, por su ayuda incondicional en los aspectos informáticos.

Dedicatoria.

Dedicado a Josefina Libreros, mi abuela, que a pesar de ya no poder contar con su presencia física, está siempre presente en mi corazón, y es y siempre será para mí una fuente de inspiración y fortaleza.

Guía de contenido

Resumen

Abstract

Guía de figuras y gráficas

Guía de tablas

	Página
1. Introducción	13
2. Marco Teórico.....	15
2.1 Definición de corioamnionitis.....	15
2.2 Patogénesis.....	15
2.3 Epidemiología.	16
2.4 Factores de riesgo.....	16
2.5 Microbiología.....	17
2.6 Manifestaciones clínicas.	17
2.7 Diagnóstico.	19
2.7.1 Diagnóstico clínico	17
2.7.2 Pruebas de laboratorio.....	19
2.7.3 Amniocentesis.....	20
2.7.4 Marcadores inflamatorios en líquido amniótico.	21
2.8 Diagnóstico diferencial.	22
2.9 Manejo.	22
2.9.1 Antibióticos	22
2.9.2 Vía de parto.....	24
2.9.3 Monitorización fetal durante el parto.....	24
2.9.4 Antipiréticos.....	24
2.10 Prevención.....	25
3. Planteamiento del problema.....	26
3.1 Descripción del problema	26
3.2 Formulación del problema	26
4. Justificación.....	27
5. Objetivos	28

5.1	Objetivo general	28
5.2	Objetivos específicos	28
6.	Aspectos metodológicos específicos.....	29
6.1	Tipo de estudio.....	29
6.2	Población de referencia.....	29
6.3	Población de estudio	29
6.4	Criterios de inclusión	29
6.5	Criterios de exclusión.....	30
6.6	Variables	30
6.7	Hipótesis.....	32
6.8	Técnica de recolección de la información (instrumento).....	32
7.	Materiales y métodos	33
7.1	Valoración clínica.	33
7.1.1	Toma de muestra de las membranas amnióticas y sangre de cordón umbilical..	34
7.2	Evaluación de microorganismos periodontopatógenos en placa subgingival.....	34
8.	Aspectos estadísticos.....	36
9.	Resultados	37
10.	Discusión.....	44
11.	Conclusiones.....	47
12.	Referencias bibliográficas.....	48

Resumen

Antecedentes: Estudios previos han demostrado asociaciones entre infecciones intra-amnióticas con parto pretérmino pero no existen estudios en nuestro medio que evalúen la frecuencia de microorganismos presentes en la membrana placentaria y si la presencia de estos microorganismos se correlaciona con signos y síntomas clínicos durante el embarazo y el parto.

Objetivo: Establecer la asociación entre signos y síntomas clínicos durante el parto y factores de riesgo para parto pre-término durante el embarazo con microorganismos aislados de infecciones intra-amnióticas.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio de casos y controles durante un periodo de 24 meses, se clasificaron como casos a las pacientes con parto pretérmino (PPT) antes de las 37 semanas y los controles correspondieron a las paciente que tuvieron parto a término (PAT). Las pacientes fueron valoradas clínicamente al ingreso al servicio de urgencias y se consignaron todos las variables y hallazgos clínicos, posterior al parto se tomaron muestras de tejido placentario y sangre de cordón umbilical para realizar identificación de microorganismos por métodos moleculares..

Resultados: Se analizaron un total de 211 pacientes (PPT=84 y PAT=127), se evidenció que la ruptura prolongada de membranas ocurrió con mayor frecuencia en el grupo de casos (31 Vs 11; $p=0.000$), igualmente se realizaron más cesáreas en el grupo de PPT (25 Vs 5 $p=0.000$). La prevalencia de microorganismos en placenta fue de 9.47% (20/211) de la población estudiada. Sin embargo, los microorganismos más aislados fueron de origen oral y fueron más frecuentes en PAT. *M. hominis* y *Staphylococcus spp* fueron asociados con corioamnionitis ($p<0.05$). No se encontraron asociaciones entre las manifestaciones clínicas y cuidado prenatal y signos y síntomas de infección intra-amniótica con la identificación de microorganismos en tejido placentario.

Conclusión: La detección de microorganismos en la placenta para el diagnóstico de corioamnionitis carece de utilidad debido a la pobre asociación encontrada con las variables clínicas que generalmente dictan el diagnóstico.

Palabras claves: Parto pretérmino, corioamnionitis, ruptura prematura de membranas.

Abstract

Background: Previous studies have shown associations between intra-amniotic infections with preterm delivery but there are no studies in our country to assess the frequency of microorganisms present in the placental membrane and if the presence of these organisms is correlated with clinical signs and symptoms during pregnancy and childbirth.

Objective: To establish the association between clinical signs and symptoms during delivery and risk factors for preterm delivery during pregnancy with microorganisms isolated from intra-amniotic infections.

Materials and Methods: A case-control study was conducted over a period of 24 months, were classified as cases of patients with preterm labor (PPT) before 37 weeks and controls corresponded to patients who delivered at term (PAT). Patients were assessed clinically at admission to the emergency room and all subsequent variables and clinical findings, childbirth placental tissue samples and cord blood were taken for identification of microorganisms by molecular methods were recorded ..

Results: A total de211 patients (PPT = 84 and PAT = 127) were analyzed, it was shown that prolonged rupture of membranes occurred more frequently in the case group (31 vs. 11; $p = 0.000$), also more caesarean sections were performed in the PPT group (25 vs 5 $p = 0.000$). The prevalence of microorganisms in placenta was 9.47% (20/211) of the study population. However, the most isolated microorganisms were of oral origin and were more frequent in PAT. *M. hominis* and *Staphylococcus spp* were associated with chorioamnionitis ($p < 0.05$). No associations between prenatal care and clinical manifestations and signs and symptoms of intra-amniotic infection with the identification of microorganisms found in placental tissue were found.

Conclusion: The detection of microorganisms in the placenta for diagnosing chorioamnionitis is not useful due to the poor relationship found with the clinical variables that generally dictate the diagnosis.

Keywords: preterm birth, chorioamnionitis, premature rupture of membranes.

Guía de figuras

Figura 1. Descripción gráfica de microorganismo asociados a infección intraamniótica...40

Guía de tablas

30

Tabla 1. Variables del estudio.....30

Tabla 2. Variables sociodemográficas y parámetros clínicos por grupo estudiado.....38

Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en tejido placentario en mujeres gestantes con parto pre-término y parto a término40

Tabla 4. Asociación entre variables del cuidado prenatal y del parto asociadas a la presencia de microorganismos identificados en tejido placentario identificadas por N-PCR42

Tabla 5. Asociación entre variables clínicas asociadas a parto pre-término y la presencia de microorganismos identificados en tejido placentario identificadas por N-PCR.43

1. Introducción

La corioamnionitis significa la infección del líquido amniótico, membranas, placenta y/o decidua. Basados en la presencia o ausencia de signos clínicos y resultados de pruebas diagnósticas, la corioamnionitis puede ser clasificada en subgrupos tales como corioamnionitis clínica y subclínica, o la corioamnionitis histológica, que puede ser no infecciosa (1).

La corioamnionitis es una de las causas de morbilidad febril en el periodo peri parto. Está asociada en un 20 a 40 por ciento de los casos de sepsis neonatal temprana y neumonía (2). Entre las complicaciones maternas se describen infecciones postparto y sepsis principalmente (1).

Generalmente, ésta es causada por infección por una polimicrobiana ascendente del tracto genital en el escenario de una ruptura de membranas, sin embargo la corioamnionitis puede presentarse con membranas íntegras y parece ser ocasionada por gérmenes muy pequeños y difíciles de cultivar tales como *Ureaplasma* y *Mycoplasma hominis* los cuales se encuentran en la flora vaginal en un 70% de las mujeres (3).

Los signos clínicos asociados a la corioamnionitis clínica son fiebre, hipersensibilidad uterina, taquicardia materna (>100lpm), taquicardia fetal (>160 lpm) y líquido amniótico fétido o purulento (4). La fiebre es el criterio principal para el diagnóstico de infección intra-amniótica con una sensibilidad del 95-100% (5). Otros criterios como la taquicardia materna y fetal tienen una sensibilidad más baja, del 50-80% y 40-70% respectivamente. (1-5).

Pocos estudios se han realizado para evaluar la asociación de signos clínicos de corioamnionitis con el aislamiento de microorganismos en placentas y membranas amnióticas, además, como se explicó antes, no todas las paciente que cursan con corioamnionitis presentan signos clínicos en el periodo periparto. El objetivo de este estudio es evaluar la asociación que existe entre el aislamiento de microorganismos en

membranas amnióticas y la ausencia o presencia de signos clínicos en pacientes con parto pretérmino.

2. Marco Teórico

2.1 Definición de corioamnionitis.

La corioamnionitis es una inflamación aguda de las membranas y el corion de la placenta, usualmente en el escenario de una ruptura de membranas ovulares (1). También puede presentarse con membranas íntegras por gérmenes difíciles de cultivar como las especies de *Ureaplasma* y *Mycoplasma hominis*. En raras ocasiones la infección ocurre por diseminación hematógena, como es el caso de la *Listeria monocytogenes* (4). Otra puerta de entrada de las bacterias es la que se produce cuando se realizan procedimientos diagnósticos invasivos (amniocentesis, biopsia de vellosidades coriónicas). Cuando las características clínicas están presentes en la paciente hablamos de una corioamnionitis clínica. La funisitis es un diagnóstico histopatológico, y es la extensión de la infección o inflamación al cordón umbilical (4).

2.2 Patogénesis.

Como ya se mencionó, el paso de microorganismos infecciosos al corio-amnion y cordón umbilical es el proceso por el que se produce la infección, y la vía más frecuente para que esto ocurra es la ascendente desde el tracto genital inferior. Otras menos frecuentes son la diseminación hematógena y por procedimientos invasivos. La presencia de agentes infecciosos en las membranas ovulares desencadenan una respuesta inflamatoria materna y fetal caracterizada por la liberación de citoquinas inflamatorias. Ésta respuesta inflamatoria lleva a la liberación de prostaglandinas y con esto borramiento cervical, lesión tisular de la membrana amniótica y desencadenamiento del parto ya sea a término o pre-término (6).

Factores locales específicos del huésped parecen jugar un papel fundamental en la prevención de la infección. El moco cervical, placenta y membranas proveen una barrera que protege el feto y el líquido amniótico de la infección. Hay evidencia de que las membranas fetales tienen una función antimicrobiana que las protege de la ruptura (6). Las células de las membranas fetales aparentemente median una respuesta inmune a través de la

activación de receptores toll-like, los cuales son claves para el reconocimiento de los componentes de bacterias y virus (7). Por último, los lactobacilos en la flora vaginal afectan la virulencia de los organismos patógenos.

2.3 Epidemiología.

La incidencia reportada la infección intra-amniótica varía según las publicaciones, pero muestra una disminución a medida que se acerca la gestación al término. En Estados Unidos aproximadamente el 1 al 4% de todos los nacimientos vivos son complicados por corioamnionitis (4); sin embargo la frecuencia reportada de corioamnionitis en dicho país es muy variable debido a diferencias en criterios diagnósticos y edad gestacional (8).

La corioamnionitis ya sea clínica o histológica afecta cerca del 40 al 70% de todos los partos pretérmino con ruptura prematura de membranas (9) y el 1 al 13% de partos a término (10). El doce por ciento de las cesáreas a término presentan corioamnionitis clínica, siendo la indicación más frecuente la falta en la progresión en la dilatación asociado a ruptura prolongada de membranas. (11).

2.4 Factores de riesgo.

Muchos factores obstétricos han sido asociados con la infección intraamniótica, entre estos se describen (12):

1. Trabajo de parto prolongado.
2. Ruptura de membrana prolongada.
3. Múltiples tactos vaginales.
4. Nuliparidad.
5. Corioamnionitis previa.
6. Líquido amniótico con meconio.
7. Infecciones vaginales.
8. Uso de alcohol y tabaco.

El trabajo de parto prolongado y la ruptura prematura de membranas parecen ser los factores más importantes, mientras que los múltiples tactos vaginales son tal vez una consecuencia del trabajo de parto prolongado (13). La ruptura de membranas puede ser un factor de riesgo como a su vez, una consecuencia de una corioamnionitis subclínica (14).

2.5 Microbiología.

La infección intraamniótica es polimicrobiana, los cultivos de líquido amniótico en embarazos complicados por corioamnionitis revelan múltiples microorganismos, usualmente pertenecientes a la flora vaginal o entérica. Dos tercios de las mujeres con corioamnionitis tienen al menos dos especímenes aislados en los cultivos de líquido amniótico. Independientemente de la edad gestacional, los micoplasmas genitales (especies de *Ureaplasma* y *Micoplasma*) son los aislados con mayor frecuencia. Anaerobios como *Gardnerella vaginalis*, bacilos Gram-negativos entéricos y estreptococos del grupo B son otros patógenos frecuentes (1).

Los micoplasmas genitales son los microorganismos más frecuentemente detectados en los cultivos de pacientes con corioamnionitis confirmada y son altamente prevalentes en el tracto genital inferior. Por esta razón, muchos autores atribuyen la presencia de estos gérmenes a la contaminación o colonización proveniente del tracto genital inferior más que a una verdadera infección. Sin embargo, hay muchos datos que apoyan la teoría de que en realidad es una infección, pues se ha visto que estos microorganismos inducen una fuerte reacción inflamatoria con consecuencias clínicas en la madre y el neonato (15).

2.6 Manifestaciones clínicas.

Las manifestaciones principales asociadas con la corioamnionitis clínica incluyen:

1. Fiebre.
2. Hipersensibilidad uterina.
3. Taquicardia materna (>100lpm)

4. Taquicardia fetal (>160lpm)
5. Amniorrea fétida o purulenta.

La fiebre materna, como se mencionó antes, es el signo clínico más importante (4). Aunque la fiebre aislada puede ser transitoria en el trabajo de parto, si la fiebre persiste más de una hora requiere evaluación y una apropiada intervención. La fiebre está presente en el 95-100% de los casos de corioamnionitis clínicas por lo cual es requisito para el diagnóstico de dicha entidad (4). La fiebre que se presenta posterior a la aplicación de analgesia peridural, especialmente en mujeres nulíparas con trabajo de parto prolongado, o también llamada fiebre epidural, es frecuentemente encontrada, siendo ésta un factor de confusión importante. Esto se debe a que la analgesia peridural puede enmascarar la hipersensibilidad uterina y puede inducir taquicardia fetal y/o materna (16). El mecanismo exacto por el cual se produce la fiebre por analgesia epidural es desconocido, pero se cree que es el resultado de un bloqueo simpático del proceso de termorregulación, como la sudoración (16).

La taquicardia materna y fetal ocurre frecuentemente en la corioamnionitis, presentándose en un 50-80% y 40-70% de los casos respectivamente (4). La taquicardia puede estar presente en ausencia de corioamnionitis y requiere un estudio cuidadoso para descartar otros posibles orígenes. Medicamentos tales como efedrina, antihistamínicos y beta-agonistas pueden elevar la frecuencia cardíaca materna o fetal (1).

Además de los parámetros objetivos ya mencionados, otros signos de corioamnionitis son muy subjetivos. La hipersensibilidad uterina y la amniorrea fétida o maloliente se reportan en sólo el 4 al 25% de los casos de corioamnionitis (5). La hipersensibilidad uterina es difícil de evaluar debido al dolor propio del trabajo de parto o la enmascaramiento por la analgesia peridural. El mal olor del líquido amniótico se presenta más frecuentemente en infecciones severas o de tiempo prolongado, pero puede ser pasado por alto por el médico tratante (1).

La corioamnionitis subclínica por definición no presenta ninguno de los signos mencionados anteriormente, pero puede manifestarse como un trabajo de parto pretérmino

o como una ruptura prematura de membranas pretérmino. Además, la ruptura de membranas a término, antes del inicio de las contracciones está asociada con un incremento en el riesgo de corioamnionitis (17).

2.7 Diagnóstico.

El diagnóstico se hace esencialmente clínico, sin embargo hay ayudas diagnóstica que nos permiten a llegar al diagnóstico de una manera más acertada.

2.7.1 Clínico.

Como ya se mencionó, la fiebre es el criterio clínico más importante para realizar el diagnóstico de corioamnionitis. La fiebre más otros dos criterios clínicos (hipersensibilidad uterina, taquicardia materna o fetal, amniorrea purulenta) son suficientes para realizar un diagnóstico clínico. Debido a la baja especificidad de los hallazgos clínicos, se deben considerar y descartar otras posibles causas que expliquen los mismos signos clínicos (1).

2.7.2 Pruebas de laboratorio.

Un hemograma nos puede aportar información sobre la respuesta inmunológica materna, la presencia de leucocitosis (mayor de 15.000/uL) apoya el diagnóstico de corioamnionitis (18). La leucocitosis está presente en un 70 a 90% de los casos de corioamnionitis, sin embargo, la leucocitosis en ausencia de otros signos es de valor limitado y puede ser causada por múltiples causas, incluyendo el mismo parto o uso de esteroides para maduración pulmonar (1).

Otros parámetros de laboratorio como la elevación de la proteína C reactiva, proteína ligadora de lipopolisacáridos, la molécula de adhesión intercelular soluble 1 y la interleucina (IL) 6 que están asociadas con un riesgo mayor de presentar corioamnionitis en pacientes con ruptura prematura de membranas o parto pretérmino.

2.7.3 Amniocentesis.

La amniocentesis para cultivo de líquido amniótico establece el diagnóstico de corioamnionitis cuando el resultado es positivo. Éste procedimiento ha sido usado principalmente en mujeres con amenaza de parto pretérmino refractaria al manejo con tocolíticos y en casos de ruptura prematura de membranas pretérmino para determinar si la inducción de parto es factible. Ocasionalmente la amniocentesis se realiza para diferenciar entre corioamnionitis y otras causas de hipersensibilidad uterina y fiebre materna (1).

El cultivo de líquido amniótico sigue siendo el “gold standard” y la prueba más específica para la documentación de infección intraamniótica, pero tiene la limitación de que se tiene que esperar tres días para obtener el resultado definitivo, lo cual es mucho tiempo en cuestión de efectividad clínica para tomar una decisión. Otras pruebas en el líquido amniótico como la tinción de Gram, concentración de glucosa, leucocitos y niveles de esterase leucocitaria pueden ser obtenidos de una forma más rápida. Todas estas pruebas tienen un bajo valor predictivo positivo para detectar infección intra amniótica (25 al 75%) e incluso una menor habilidad de predecir sepsis neonatal (21).

- El Gram se realiza sobre una muestra de líquido amniótico sin centrifugar; la centrifugación no aumenta la sensibilidad de la técnica. Se debe evaluar con 20 a 30 campos de ampliación, la presencia de cualquier bacteria y leucocitos (al menos 6 por campo) es sospechoso de infección. Sensibilidad de 24% y especificidad de 99% (22).
- La concentración de glucosa es medida con un analizador automático (resultado anormal: < 15mg/dL). Sensibilidad de 57%, especificidad de 74% (22).
- La concentración de leucocitos puede ser determinada usando con contador Coulter (resultado anormal: >30 células/mm³). Sensibilidad de 57% y especificidad de 78% (22).
- La evaluación de la actividad de la esterase leucocitaria posee una sensibilidad de 85 a 91% y especificidad de 95 al 100% (23).

En pacientes con trabajo de parto pretérmino, los resultados combinados de Gram, estereasa leucocitaria, glucosa baja y leucocitos elevados en líquido amniótico tienen una sensibilidad del 90% y especificidad del 80% para predecir un resultado positivo en el cultivo de líquido amniótico (1). Sin embargo, debido a la baja prevalencia de corioamnionitis, ésta combinación de pruebas tienen una tasa de falsos positivos de 67%, así que el médico tratante debe ser cuidadoso en interpretar estos resultados antes de tomar decisiones sin esperar el resultado del cultivo, especialmente cuando se trata de inducir el parto de un feto inmaduro. Además, una alta concentración de leucocitos es menos predictiva de infección cuando la amniocentesis es traumática (definida como un conteo de glóbulos rojos $>1000/\text{mm}^3$) (24).

2.7.4 Marcadores inflamatorios en líquido amniótico.

Los niveles elevados de citoquinas (IL-6 y matrix metaloproteína) en líquido amniótico están asociados con infección, parto pretérmino y síndrome de respuesta inflamatoria fetal (25,26). La evidencia de inflamación es un factor pronóstico más importante para la predicción de resultados adversos fetales que el cultivo positivo, el cual podría significar simplemente colonización bacteriana. En un estudio de 305 mujeres en trabajo de parto pretérmino con membranas íntegras, la latencia media fue similar en embarazos con cultivo de líquido amniótico positivo y negativo (27). Sin embargo, en el mismo estudio la latencia en pacientes con IL-6 menor a 2.6 ng/mL fue mayor (23 a 25 días) comparada con las pacientes con niveles de IL-6 mayores a 11.3 ng/mL (1 a 2 días). Lo mismo aplica para morbilidad fetal (21-15% vs 72-81%) (27).

Niveles altos de IL-6 en el fluido cervico-vaginal parece ser predictivo de invasión microbiana de la cavidad amniótica en pacientes con amenaza de parto pretérmino con membrana íntegras (28). La proteína C reactiva $> 2 \text{ mg/dL}$ por el contrario no es útil para la detección de corioamnionitis en fases tempranas (29).

La evaluación de biomarcadores proteómicos en el líquido amniótico muestran resultados prometedores en el diagnóstico de corioamnionitis, sin embargo aún se encuentran bajo investigación (30).

2.8 Diagnóstico diferencial.

El diagnóstico diferencial incluye, pero no está limitado a (1):

- Trabajo de parto: Puede producir leucocitosis, taquicardia, hipersensibilidad uterina y fiebre (si la paciente ha recibido analgesia peridural)
- Abruption de placenta: Presenta hipersensibilidad uterina y taquicardia, pero usualmente a sangrado vaginal y ausencia de fiebre.
- Infecciones extrauterina: Pueden causar fiebre y dolor abdominal (no de trabajo de parto), entre estas se describen le pielonefritis, influenza, apendicitis y neumonía.

En un estudio de 139 embarazos con diagnóstico clínico de corioamnionitis, el examen histológico de la placenta no confirmó el diagnóstico hasta en un tercio de los casos (34). Como se mencionó antes, las paciente nulíparas con analgesia peridural pueden presentar fiebre y taquicardia, y enmascara los algunos signos clínicos de la infección intraamniótica.

2.9 Manejo.

Para el control de la infección se usan antibióticos, pero la corioamnionitis sólo puede considerarse curada después del parto y la expulsión de los productos infectados de la concepción.

2.9.1. Antibióticos.

Deben administrarse antibióticos de amplio espectro inmediatamente después de realizado el diagnóstico de corioamnionitis. En una revisión sistemática realizada en el 2014 de un único estudio en el cual se comparó el inicio de antibióticos intraparto versus postparto, el

primero se vio asociado a una reducción en el número de sepsis neonatal temprana (RR 0.08%; 95% IC 0.00-1.44) y neumonía (RR 0.06; IC 0.00-0,95), sin embargo las diferencias no fueron estadísticamente significativas (31).

Los regímenes de antibióticos de amplio espectro que cubran bacterias aerobias productoras de betalactamasas y anaerobias son los preferidos para el manejo de la corioamnionitis y endometritis postparto (33). En el estudio anterior no se encontró diferencias entre administrar ampicilina y gentamicina versus los dos anteriores más clindamicina (31).

El manejo estándar con ampicilina 2g endovenosos cada 6 horas más gentamicina 1.5 mg/kg cada horas para pacientes con función renal normal es seguro y efectivo. Otros centros prefieren administrar una dosis diaria de gentamicina 5 mg/kg que es igual de efectiva y segura, y más cómoda para la paciente (32).

Algunos regímenes alternativos son:

- Ampicilina-sulbactam 3g endovenosos cada 6 horas.
- Cefoxitina 3 gramos endovenosos cada 6 horas.

En caso de parto por cesárea los gérmenes anaerobios juegan un papel fundamental en la endometritis post-cesárea. La adición de cubrimiento contra anaerobios reduce la tasa de fallas en prevención de endometritis y por esto se debe adicionar clindamicina 900 mg endovenosos cada 8 horas o metronidazol 500 mg endovenosos cada 8 horas en paciente cuya vía de parto sea la cesárea (33).

La duración óptima del manejo antibiótico aún no ha sido establecida. Algunos autores sugieren continuar el manejo sólo con una dosis adicional postparto. Algunos ensayos aleatorizados pequeños y estudios observacionales de mujeres con corioamnionitis en los que comparan una dosis postparto o ninguna dosis versus múltiples dosis no muestran reducción significativa en la complicaciones o falla en tratamiento (35).

Otros autores prefieren continuar el esquema antibiótico hasta que la paciente permanezca afebril durante 24 horas. En un estudio, las pacientes que más se beneficiaban de este esquema eran las pacientes cuya vía de parto fue la cesárea ya que éstas tienen una mayor prevalencia de fiebre persistente postparto (35).

Por último NO hay evidencia de que la vía oral tenga algún beneficio después de discontinuar la parenteral (36).

2.9.2 Vía de parto.

Algunos obstetras creen que entre más tiempo pase el feto en un ambiente infectado, mayor es el riesgo del de presentar infección neonatal y complicaciones a corto y largo plazo. Ésta preocupación puede llevar a un número alto de cesáreas, sin embargo una vía expedita de parto universal no ha sido establecida (1). La cesárea debe reservarse sólo para indicaciones obstétricas ya que no hay evidencia de que la duración de la infección esté correlacionada con los efectos adversos neonatales (11).

2.9.3. Monitorización fetal durante el parto.

La monitorización fetal continua es una estrategia adecuada para identificar el compromiso fetal debido al edema velloso, estrés por hipertermia, infección fetal u otros factores. Un trazado de monitoría fetal categoría III es sugestivo de acidosis fetal y debe darse parto por la vía más expedita prontamente (37).

2.9.4 Antipiréticos.

En estudios en humanos, la combinación de fiebre materna y acidosis fetal confieren un 12.5% de riesgo de encefalopatía neonatal (OR 94, 95% IC 29-307), lo anterior apoyan el uso de antipiréticos en la infección intra-amniótica. La reducción de la fiebre intraparto

también reduce la taquicardia fetal y así, el número de cesáreas por estado fetal insatisfactorio (38).

2.10 Prevención.

El manejo expectante de la ruptura de membranas pretérmino es la mayor causa de corioamnionitis clínica, hasta el 70% de la pacientes que desencadenan trabajo de parto presentan corioamnionitis (39). El uso de antibióticos profilácticamente durante la latencia, usualmente ampicilina y eritromicina, ha demostrado beneficios en cuanto a reducción de la tasa de muerte neonatal, anormalidades ecográficas cerebrales y enfermedad pulmonar crónica. También han demostrado disminuir la incidencia de corioamnionitis clínica y sepsis neonatal (40).

En el caso de ruptura de membranas a término prolongada (> 18 horas), el uso de antibiótico profiláctico no es necesario si la paciente no está colonizada por estreptococo del grupo B; sin embargo la CDC recomienda iniciar profilaxis en casos en los cuales el estado de colonización por estreptococo del grupo B sea desconocido (41).

3. Planteamiento del problema

3.1 Descripción del problema

El parto pre-término es una complicación perinatal altamente asociada a la morbi-mortalidad perinatal. Muchos factores han sido asociados al parto pre-término y las infecciones intra-amnióticas son uno de los factores más importantes en la inducción de esta condición. Los microorganismos patógenos pueden llegar a la cavidad amniótica por vía hematogena (infección urinaria, infecciones de la cavidad oral, neumonías, entre otras) o por vía ascendente (*Gardnerella vaginalis* y algunas especies de *Mycoplasma*). El problema desde el punto de vista clínico con este tipo de infecciones es que en su gran mayoría se presentan de manera sub-clínica y su detección es difícil durante su curso clínico. Hoy en día, el cultivo de líquido amniótico, los marcadores bioquímicos como la fibronectina fetal, IL-6, proteína C reactiva, entre otros, y algunos marcadores ecográficos como el “sludge” ha logrado mejorar la tasa de diagnóstico de infecciones intra-amnióticas en los embarazos en curso, sin embargo, son exámenes de alto costo y no disponibles fácilmente en nuestro medio. Pocos estudios han evaluado los microorganismos aislados de membrana amniótica con métodos moleculares en mujeres con parto pre-término y su relación con la sintomatología clínica al momento del parto y factores de riesgo para parto pre-término durante el embarazo, lo que podría dar información relevante del comportamiento clínico de las infecciones intra-amnióticas en nuestro medio.

3.2 Formulación del problema

- ¿Cuáles son los microorganismos aislados de tejido placentario en infecciones intra-amnióticas en mujeres con parto-pre-término?
- ¿Se correlaciona la presencia de estos microorganismos con signos y síntomas clínicos observados durante el parto?

4. Justificación

El parto pre-término es una de las co-morbilidades más frecuentes en nuestra institución y la literatura mundial ha demostrado la alta frecuencia de la asociación con infecciones y esta condición lo que genera aumentos de costos de atención neonatal y perinatal con aumento de morbi-mortalidad en este grupo. La identificación de los microorganismos de mayor frecuencia en nuestra población y su correlación con signos y síntomas clínicos durante el parto y factores de riesgo asociados a parto pre-término podría determinar mecanismos adecuados en el manejo y en el planteamiento de tratamientos preventivos.

5. Objetivos

5.1 *Objetivo general*

Establecer la asociación entre signos y síntomas clínicos durante el parto y factores de riesgo para parto pre-término durante el embarazo con microorganismos aislados de infecciones intra-amnióticas.

5.2 *Objetivos específicos*

- Identificar los microorganismos aislados de infecciones intra-amnióticas en mujeres con parto pre-término y en mujeres a término.
- Determinar si los síntomas referidos como infección intra-amniótica al momento del parto se relacionan con microorganismos aislados de origen en infecciones del tracto genito-urinario.
- Determinar si los síntomas referidos como infección intra-amniótica se relacionan con microorganismos aislados de origen periodontal.
- Determinar si los síntomas referidos como infección intra-amniótica se relacionan con microorganismos aislados de origen en infecciones extra genitales.

6. Aspectos metodológicos específicos

6.1 Tipo de estudio

Estudio de casos y controles

6.2 Población de referencia

Casos: Mujeres atendidas en el servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Simón Bolívar con parto-pretérmino.

Controles: Mujeres atendidas en el servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Simón Bolívar con parto a término.

6.3 Población de estudio

Fueron evaluadas un total de 211 mujeres quienes aceptaron voluntariamente a participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado del mismo.

Las pacientes fueron clasificadas en:

Grupos caso: Parto pretérmino (*n*: 84)

Grupo control: Parto a término (*n*: 127)

6.4 Criterios de inclusión

Para el grupo pre-termino: Mujeres mayores de 18 años con menos de 37 semanas de gestación en el momento del parto.

Para el grupo de parto a término: Mujeres mayores de 18 años con más de 37 semanas de gestación

6.5 Criterios de exclusión

Mujeres con anomalías uterinas, malformaciones fetales, abundante sangrado vaginal y sufrimiento fetal. Mujeres con enfermedades infecciosas o sistémicas como VIH, tuberculosis o candidiasis, diabetes, fumadoras o que ingieran alcohol o sustancias psicoactivas. Mujeres que se encuentren bajo tratamiento antibiótico en el momento del parto o en el último mes.

6.6 Variables

Tabla 1. Variables del estudio

Variable	Tipo de Variable	Definición operacional	Naturaleza	Nivel de Medición	Escala de Medida
Edad.	Control.	Edad en años de la mujer.	Cuantitativo.	Razón Discreta	Número de años.
Edad gestacional.	Control.	Tiempo transcurrido en semanas desde la fecha de la última menstruación y el parto.	Cuantitativo	Razón Discreta.	Número de semanas > 24 semanas.
Ruptura prolongada de membranas.	Dependiente.	Tiempo mayor a 12 horas desde la ruptura de la membrana amniótica y el parto.	Cuantitativo	Nominal. Dicotómica.	0 No 1 Si
Vía de parto.	Control	Vía de obtención del producto de la gestación y membranas ovulares.	Cualitativo	Razón Dicotómica	0 Vaginal 1 Cesárea.
Cuidado prenatal.	Control.	Consultas prenatales llevadas durante la gestación. Se considera pobre menos de 3	Cualitativo	Razón. Dicotómica.	0 Adecuado 1 Pobre.

Paridad.	Control .	Número de partos previos al embarazo actual.	Cualitativo	Razón. Dicotómica.	0Multigestante 1Primigestante
Infección asociada.	Independiente.	Presencia de otra infección diferente a corioamnionitis al momento del parto.	Cualitativo	Nominal Dicotómica.	0 No 1 Si
Vaginosis.	Independiente.	Presencia de infección vaginal durante el embarazo.	Cualitativo	Nominal. Dicotómica.	0 No 1 Si
Corioamnionitis	Independiente.	Infección de los productos ovulares.	Cualitativo	Nominal. Dicotómica.	0 No 1 Si
Hipersensibilidad uterina.	Dependiente.	Hiperalgnesia a la palpación del útero en el abdomen.	Cualitativo	Nominal Dicotómica	0 No 1 Si
Fiebre.	dependiente	Elevación de la temperatura corporal > 37.9° centígrados.	Cualitativo	Nominal Dicotómica	0 No 1 Si
Taquicardia materna.	dependiente	Frecuencia cardiaca materna > 90 latidos por minuto.	Cualitativo	Nominal Dicotómica	0 No 1 Si
Taquicardia fetal.	dependiente	Frecuencia cardiaca fetal > 160 latidos por minuto.	Cualitativo	Nominal Dicotómica	0 No 1 Si
Flujo fétido.	dependiente	Descarga vaginal maloliente.	Cualitativo	Nominal Dicotómica	0 No 1 Si

6.7 Hipótesis

Existe asociación entre microorganismos aislados de infecciones intra-amnióticas y signos y síntomas clínicos durante el parto.

6.8 Técnica de recolección de la información (instrumento)

A cada paciente se le explicó el propósito del estudio y a su vez se le entregó un consentimiento informado que contenía dicha información y debía ser diligenciado ante la presencia de dos testigos una vez, que por decisión propia, aceptaba ingresar al estudio. Previamente debía ser diligenciada la respectiva historia clínica de la institución hospitalaria participante para que, en base a los datos obtenidos se evaluara si contaba con los criterios de inclusión requeridos y ausencia de los criterios de exclusión establecidos. Los datos clínicos fueron consignados en un formato de recolección de datos para posteriormente ser ingresados en una base de datos de Excel. Finalmente una vez atendido el parto se tomaron muestras de membranas amnióticas y sangre de cordón umbilical para ser enviados al laboratorio y procesados para Nested-PCR para identificación y tipificación de microorganismos.

7. Materiales y métodos

7.1 Valoración clínica.

Las pacientes hospitalizadas en trabajo de parto que cumplían con los criterios de inclusión del estudio fueron valoradas clínicamente con el diligenciamiento de la historia clínica, un examen físico completo y se realizaron exámenes paraclínicos en caso de ser requeridos. Previo a la atención del parto o posteriormente en ciertos casos especiales de extrema urgencia (pacientes en fase de expulsivo al ingreso) se le explicó a cada paciente el propósito del estudio y entregó el consentimiento informado que contenía dicha información; si la paciente aceptaba voluntariamente a participar en él, éste debía ser diligenciado.

Durante un período de 24 meses (agosto 2013- agosto 2015) se evaluaron mujeres que fueron atendidas en el servicio de ginecología y obstetricia del Hospital Simón Bolívar, en el norte de la ciudad de Bogotá y que aceptaron participar en el estudio. Con una muestra final de estudio de 211 mujeres.

Se evaluaron múltiples variables clínicas, se consideró como ruptura prolongada de membrana amniótica a aquellas paciente que llevaban más de 12 horas desde le ruptura y el parto; Para evaluar el control prenatal decidimos establecer como punto de corte menos de 3 controles para establecer que la paciente había tenido un pobre cuidado prenatal durante la gestación, esto de acuerdo a los criterios establecidos por el ministerio de salud colombiano. Se clasificaron como pacientes primíparas a aquellas pacientes que no habían tenido un parto previo vaginal o por cesárea. Se consideró que las pacientes cursaban con infección asociada a aquellas pacientes que se les había diagnosticado cualquier tipo de infección que requiriera manejo antibiótico en un periodo no mayor de un mes antes del momento del ingreso al servicio de urgencias. El diagnóstico de corioamnionitis se basó en criterios clínicos preparto (Criterios de Gibbs) y postparto por el aspecto de las membranas ovulares posterior al alumbramiento (4).

7.1.1 Toma de muestra de las membranas amnióticas y sangre de cordón umbilical.

Posterior a la sección del cordón umbilical y la recolección de sangre éste para el análisis de TSH fetal, se recolectaba sangre en un tubo con citrato de sodio como anticoagulante. Una vez se completaba la fase de alumbramiento se tomaban 2 muestras de membrana amniótica de 1.5 cm², la primera en la base de inserción del cordón umbilical y la segunda en el borde libre del cotiledón contralateral de la primera muestra (en inserción hora 6 y borde libre hora 12) y éstas eran transferidas a un tubo eppendorf estéril vacío para su posterior procesamiento.

Una vez tomadas, las muestras eran llevadas al Laboratorio de Microbiología Oral del Instituto UIBO (Unidad de Investigación Básica Oral) de la Universidad El Bosque, se le adicionaba un código del laboratorio y se refrigeraban en una nevera de - 20°C hasta el momento de su procesamiento.

7.2 Evaluación de microorganismos de tejido placentario

El ADN de las muestras de placenta fue extraído previa disociación mecánica del tejido usando el kit QIA Amp Tissue Kit (Quiagen), para la extracción de las muestras de sangre de cordón umbilical se utilizó el método de fenol cloroformo modificado (50) Posteriormente se realizó la amplificación de las bacterias usando un primer universal para Eubacterias EUB-27F: 5-GAGTTT GAT CCT GGC TCA G-3' y EUB-1544R: 5'-AGA AAG GAG GTG ATC CAG CC-3', dirigido a la amplificación de un fragmento del gen r16S RNA común entre las bacterias, esta amplificación se evidencio por la presencia de un producto de amplificación de 1407 pb en gel de agarosa al 2% con 0,5µg/ml de bromuro de etidio; posteriormente se cuantificaron las muestras positivas para primer universal para verificar la presencia de mínimo de 12ng/µL de ADN.

Para la identificación de los microorganismos de interés se realizaron PCR convencionales específicas a todas las muestras positivas para primer universal.

Como controles positivos se incluyeron cepas de referencia de la ATCC para cada bacteria y como control negativo agua grado 1 estéril.

Los microorganismos de interés fueron agrupados de la siguiente manera:

Perfil oral: *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Parvimonas micra* *T. forsythia* y *T. Denticola*.

Perfil uro-vaginal: *Ureoplasma urealyticum*, *Gardenella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Chlamydia trachomatis*, *Streptococcus sanguinis* y *Candida albicans*.

Otros: *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* de Grupo B (*S. agalactiae*), *Mycoplasma hominis* y *Ureoplasma urealyticum*.

Para la identificación de *C. albicans* se realizó PCR convencional empleando los primers 5'- GGTTTGCTTGAAAGACGGTAG-3' y 5'-AGTTTGAAGATATACGTGGTAG-3' (51)

8. Aspectos estadísticos

Se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas para cada microorganismo evaluado y las frecuencias absolutas y relativas para cada síntoma asociado a infección intra-amniótica y para cada factor de riesgo presente durante el embarazo. Se realizaron análisis bivariados para establecer las asociaciones entre la presencia de cada microorganismo con los síntomas asociados a infección intra-amniótica y para cada factor de riesgo con la prueba de χ^2 /prueba exacta de Fisher con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$). Para variables continuas se estableció el tipo de distribución de los datos y para todos los casos se utilizaron prueba de U Mann Whitney ya que los datos no siguieron la distribución normal.

9. Resultados

9.1 Características sociodemográficas y signos clínicos de infección intra-amniótica de los grupos estudiados:

Las características demográficas de la población a estudio se presentan en la tabla 2. Se analizaron un total de 211 pacientes, 84 casos y 127 controles. Aunque la edad fue mayor para el grupo de casos las diferencias no fueron significativas ($p>0.05$). Se observaron diferencias significativas entre las mujeres con PPT y las pacientes con parto a término para la presencia de RPM y la vía del parto ($p=0.000$). La vía de parto vaginal fue mayor en el grupo de PPT y presentaron mayor frecuencia de RPM. Se evidenció un mayor número de pacientes que presentaron ruptura prolongada de membranas (>12 horas) en el grupo de casos que en el de controles (31 Vs 11; $p=0.000$).

Para los síntomas de infección intra.amniótica, la taquicardia materna y fetal fueron los síntomas más frecuentes en casos comparado con las mujeres control; el 17.9% de las mujeres con PPT presentaron taquicardia materna y el 8.3 % taquicardia fetal ($p=0.000$). Los otros síntomas asociados a infección intra-amniótica como fiebre, conioamninitis, vaginosis y fluido fétido no fueron diferentes entre las mujeres con PPT y PAT ($p>0.05$). De las pacientes que presentaron infección asociada el 70% presentaron bacteriuria asintomática y el 30% infecciones de vías respiratorias superiores.

Tabla 2. Variables sociodemográficas y signos clínicos de infección intra-amniótica en para mujeres con PPT y PAT

	PPT n=84	PAT n=127	Valor p
Edad (años)± SD	24.39 ± 5.4	24.07 ±5.9	0.44
Edad gestacional (semanas) ± SD	33.9 ± 2.5	38.9± 1.0	0.000
RPM			
Si	31(73.8%)	11(26.2%)	0.000
No	53(31.7%)	116(68.6%)	
Vía de parto			
Vaginal	59(70.2%)	122(96%)	0.000
Cesárea	25(29.8%)	5(4%)	
Cuidado Prenatal			
Pobre	15(39.5%)	23(39.8%)	0.96
Adecuado	69(60.5%)	104(60.1%)	
Paridad			
Primigestante	57(64.5%)	78(57.8%)	0.34
Multigestante	27(35.5%)	49(42.2%)	
Infección Asociada			
Si	9(10.7%)	10(7.9%)	0.48
No	75(89.3%)	117(92.1%)	
Vaginosis			
Si	12(14.3%)	16(12.6%)	0.72
No	72(85.7%)	111(87.4%)	
Corioamnionitis			
Si	3(3.6%)	2(1.6%)	0.35
No	81(96.4%)	124(98.4%)	
Hipersensibilidad uterina			
Si	6(7.1%)	4(3.1%)	0.181
No	78(92.9%)	123(96.8%)	
Fiebre			
Si	3(3.6%)	1(0.8%)	0.147
No	81(96.4%)	126(99.2%)	
Taquicardia Materna			
Si	15(17.9%)	3(2.4%)	0.000
No	69(82.1%)	124(97.6%)	
Taquicardia Fetal			
Si	7(8.33%)	3(2.4%)	0.046
No	77(91.3%)	124(97.6%)	

Flujo Fétido			
Si	8(9.6%)	6(4.7%)	0.170
No	76(90.4%)	121(95.3%)	

PPT= Parto pre-término PAT= Parto a término RPM= Ruptura prematura de membranas
 Valor p obtenido por prueba de Chi²/prueba exacta de Fisher o U Mann Whitney. $p < 0.05$ es significativo

9.2 Identificación de microorganismos en tejido placentario en gestantes con PPT y PAT

Los hallazgos del laboratorio mostraron un total de 20 pacientes con resultado positivo (9.47%) identificando 27 microorganismos en total. *P. gingivalis*, un microorganismo de perfil oral se encontró con mayor frecuencia en las muestras evaluadas en 12 de los 211 pacientes evaluadas que correspondió al 5.68% de la muestra. Sin embargo, este microorganismo fue más frecuentemente aislado en PAT que en PPT ($p = 0.092$). La cándida albicans un microorganismo de propio de la flora vaginal se encontró más en el grupo de parto pretérmino que a término ($p = 0.027$). No se aisló ningún microorganismo de la especie de *M. hominis*, *U. urealyticum* ni *F. nucleatum* en las pacientes de parto pretérmino, pero sí en las pacientes control, aunque la diferencia no fue significativa ($p > 0.05$). Otros microorganismos con el *Staphylococcus* spp también fueron aislados en ambos grupos sin observarse una diferencia significativa $p = 0.41$. (Tabla 3 y figura 1).

9.3 Asociación entre variables de cuidado prenatal y del parto y microorganismos aislados del tejido placentario:

En la tabla 4 se observan las asociaciones de variables de cuidado prenatal y del parto con la presencia de microorganismos en tejido placentario. La presencia de microorganismos no se asoció con la vía del parto, pero sí con la duración; las pacientes con partos con duración > 12 horas presentaron una asociación significativa con el aislamiento de *M. hominis* (12% v 0.3% $p = 0.035$). La presencia de corioamnionitis (20% v 1%) y vaginosis (7.1 v 0.6%) también se asociaron con la presencia de este microorganismo ($p = 0.07$ y 0.049 respectivamente). *Staphylococcus* spp también fue asociado con corioamnionitis (20% v 0.15 $p = 0.47$).

Figura 1. Descripción gráfica de microorganismos asociados a infección intra-amniótica

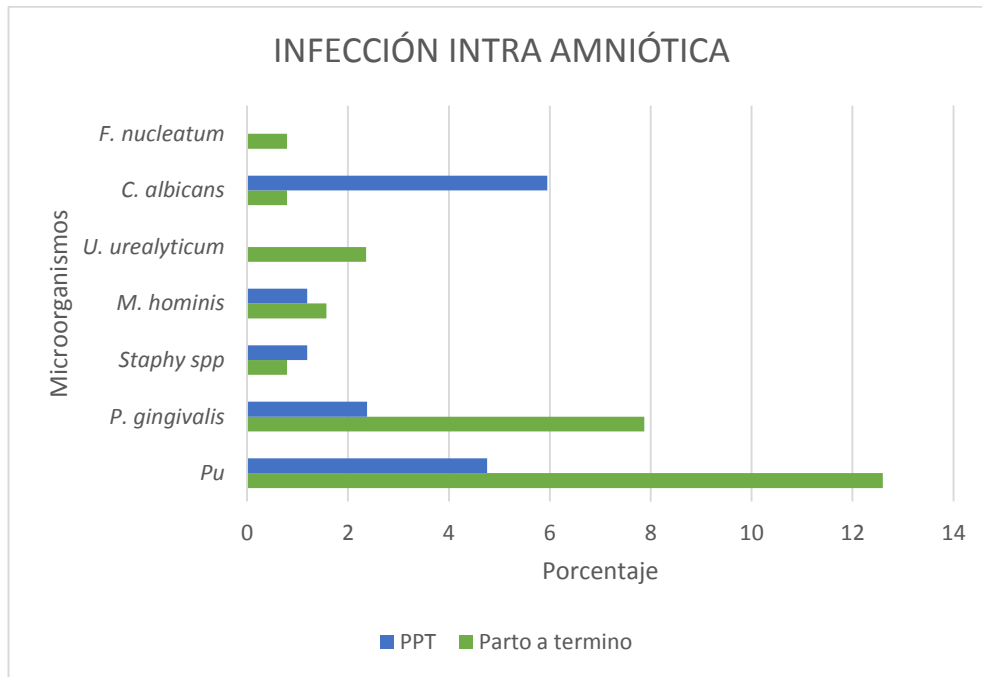


Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en tejido placentario en mujeres gestantes con parto pre-término y parto a término.

	Parto pre-término [n = 84 F(%)]	Parto a término [n = 127 F(%)]	Total [n = 211 F(%)]	Valor p
<i>P. gingivalis</i>	2 (2,38)	10 (7,87)	12 (5,68)	0,092
<i>C. albicans</i>	5 (5,95)	1 (0,79)	6 (2,84)	0,027*
<i>U. urealyticum</i>	0(0)	3 (2,36)	3 (1,42)	0,15
<i>M. hominis</i>	1 (1,19)	2 (1,57)	3 (1,42)	0,81
<i>Staphylococcus spp</i>	1 (1,19)	1 (0,79)	2 (0,94)	0,76
<i>F. nucleatum</i>	0 (0)	1 (0,79)	1 (0,41)	0,41

*p<0.05 Chi cuadrado/ prueba exacta de Fisher

9.4 Asociación de los signos y síntomas asociados a infección intra-amniótica con la presencia de microorganismos

Al asociar las variables clínicas con la presencia de microorganismos identificados en el tejido placentario no se evidenció ninguna asociación estadísticamente significativa con ninguno de los microorganismos. **Tabla 5.**

Tabla 4. Asociación entre variables del cuidado prenatal y del parto asociadas a la presencia de microorganismos identificados en tejido placentario identificadas por N-PCR

Microorganismo/ Variable	<i>Primer universal</i> n=20		<i>P. gingivalis</i> n=12		<i>Staphy spp</i> n=2		<i>M. hominis</i> n=3		<i>U. urealyticum</i> n=3		<i>C. albicans</i> n=6	
	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -	Posit +	Neg-	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -
Parto												
Vaginal	17 9.4%	164 91.6%	11 6.1%	170 96.9%	1 0.5%	180 99.5%	2 1.2%	179 98.8%	3 1.6%	178 98.4%	5 2.8%	176 97.2%
Cesárea	3 10%	27 90%	1 3.3%	29 96.7%	1 3.3%	29 96.7%	1 3.3%	29 96.7	0 0%	30 100%	1 3.3%	29 96.7%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Duración parto												
<12 horas	17 9.4%	164 91.6%	11 6.1%	170 96.9%	1 0.5%	180 99.5%	1 0.3%	180 99.5%	2 1.2%	179 98.8%	6 3.3%	175 97.7%
>12 horas	3 10%	27 90%	1 3.3%	29 96.7%	1 3.3%	29 96.7%	2 1.2%	28 98.8%	1 3.3%	29 96.7%	0 0%	30 100%
p valor	NS		NS		NS		0.032		NS		NS	
CPN												
Adecuado	16 9.3%	157 90.7%	10 5.8%	163 94.2%	2 1.2%	171 98.8%	3 1.8%	173 98.2%	2 1.6%	172 98.4%	5 2.9%	172 97.1%
Pobre	4 10.5%	34 89.5%	2 5.3%	36 94.7%	2 5.3%	36 94.7%	0 0%	38 100%	1 2.6%	37 97.4%	1 2.6%	37 97.4%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Paridad												
Primigestante	14 10.4%	121 89.7%	7 5.2%	128 94.8%	1 0.7%	134 99.3%	2 1.5%	133 98.5%	2 1.5%	133 98.5%	5 3.7%	130 96.3%
Multigestante	6 7.9%	70 92.1%	5 6.6%	71 93.4%	1 1.3%	75 98.7%	1 1.3%	75 99.7%	1 1.3%	75 99.7%	1 1.3%	75 99.7%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Infección Asociada												
Si	3 15.8%	16 84.2%	0 0%	19 100%	1 5.3%	18 94.7%	1 5.3%	18 94.7%	0 0%	19 100%	0 0%	19 100%
No	17 8.8%	175 91.2%	12 6.4%	180 93.6%	1 0.5%	191 99.5%	2 1%	190 99%	3 1.6%	189 98.4%	6 3.1%	186 96.9%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Vaginosis												
Si	4 19.3%	24 85.7%	3 10.7%	25 89.3%	1 3.6%	27 93.3%	2 7.1%	26 92.3%	1 3.6%	27 90%	1 3.6%	27 90%
No	16 8.8%	166 91.2%	9 4.9%	173 95.1%	1 0.6%	181 99.4%	1 0.6%	181 99.4%	2 1.1%	180 98.9%	5 2.8%	175 97.3%
p valor	NS		NS		NS		0.047		NS		NS	
Corioamnionitis												
Si	1 20%	4 80%	0 0%	5 100%	1 20%	4 80%	1 20%	4 80%	0 0%	5 100%	0 0%	5 100%
No	18 8.8%	187 91.2%	11 5.4%	194 94.6%	1 0.5%	204 95.5%	2 1%	203 99%	2 1%	203 99%	6 3%	199 97%
p valor	NS		NS		0.047		0.07		NS		NS	

CPN= Control Prenatal

Valor p obtenido por prueba de Chi2/prueba exacta de Fisher o U Mann Whitney. p<0.05 es significativo

Tabla 5. Asociación entre variables clínicas asociadas a parto pre-término y la presencia de microorganismos identificados en tejido placentario identificadas por N-PCR n= 20.

Microorganismo/ Variable	<i>Primer universal</i> n=20		<i>P. gingivalis</i> n=12		<i>Staphy spp</i> n=2		<i>M. hominis</i> n=3		<i>U. urealyticum</i> n=3		<i>C. albicans</i> n=6	
	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -	Posit +	Neg -
RPM	3	42	1	41	0	42	0	42	0	42	2	40
Si	7%	100%	2.4%	97.6%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	4.8%	95.2%
No	20	149	11	158	2	167	3	166	3	166	4	165
	11.9%	88.2%	6.5%	93.5%	1.2%	98.8%	1.8%	98.2%	1.8%	98.2%	2.4%	97.6%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Hipersensibilidad												
uterina	1	9	1	9	1	9	1	9	0	10	0	10
Si	10%	90%	10%	90%	10%	90%	10%	90%	0%	100%	0%	100%
No	19	182	11	190	1	200	2	199	3	198	6	195
	9.4%	90.6%	5.5%	94.5%	0.5%	99.5%	1%	99%	1.5%	98.5%	3%	97%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Fiebre	1	3	1	3	0	4	0	4	0	4	0	4
Si	25%	75%	25%	75%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	100%
No	19	188	11	196	2	205	3	204	3	204	6	201
	9.2%	90.8%	5.3%	94.7%	1%	99%	1.5%	98.5%	1.5%	98.5%	2.9%	97.1%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Taquicardia												
Materna	1	17	1	17	1	17	1	17	0	18	0	18
Si	5.6%	94.4%	5.6%	94.4%	5.6%	94.4%	5.6%	94.4%	0%	100%	0%	100%
No	19	174	11	182	1	192	2	191	3	190	6	187
	9.8%	90.2%	5.7%	94.3%	0.5%	99.5%	1%	99%	1.5%	98.5%	3.1%	96.9%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Fetal	2	8	1	9	1	9	1	9	0	10	0	10
Si	20%	80%	10%	90%	10%	90%	10%	90%	0%	100%	0%	100%
No	18	183	11	190	1	200	2	190	3	198	6	195
	9%	91%	5.5%	94.5%	0.5%	99.5%	1%	99%	1.5%	98.5%	3%	97%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Flujo Fétido												
Si	3	11	2	12	1	13	1	13	0	14	0	14
	21.4%	78.6%	14.3%	85.7%	7.1%	92.9%	7.1%	92.9%	0%	100%	0%	100%
No	17	180	10	187	1	196	2	195	3	194	6	175
	8.6%	91.4%	5.1%	94.9%	0.5%	99.5%	1%	99%	1.5%	98.5%	3.1%	96.9%
p valor	NS		NS		NS		NS		NS		NS	

RPM= Rompimiento prematuro de membranas

Valor p obtenido por prueba de Chi2/prueba exacta de Fisher o U Mann Whitney. p<0.05 es significativo

10. Discusión

En este estudio se analizó principalmente la asociación entre variables clínicas con parto pretérmino y microorganismos identificados en el tejido placentario, como primer hallazgo se puede destacar que las pacientes con parto pretérmino presentaban más ruptura prolongada de membranas que en el grupo control, ocurriendo en un tercio de los casos, esto concuerda con la literatura mundial en la cual se reporta la misma incidencia en los partos pretérmino (42). Lo mismo ocurre con el número de cesáreas, se observó que es mayor en las pacientes con PPT, esto se debe a que como observamos, era más frecuente la ruptura de membranas en pacientes con parto pretérmino, por lo cual muchas estuvieron hospitalizadas con manejo expectante, siendo el estado fetal insatisfactorio una de las indicaciones más frecuentes para inducir el parto, siendo así más propensas a ser intervenidas para finalizar la gestación (42).

En cuanto al antecedente de vaginosis no se observaron diferencias entre los dos grupos estudiados, aún cuando ya se ha demostrado la asociación que hay entre la presencia de infección vaginal y el riesgo de parto pretérmino (43), pero sí se asoció a una mayor presencia de microorganismos en el tejido placentario. Tampoco se observó diferencia entre los dos grupos cuando se buscaron infecciones asociadas; las pacientes con parto pretérmino y parto a término tuvieron alguna infección asociada en el 10.7% y 7.9% respectivamente siendo la bacteriuria asintomática la más frecuente de éstas, en el gran trabajo del Cardiff Birth Survey se estudiaron prospectivamente 25.000 pacientes entre 1970 y 1979 y encontraron que la bacteriuria asintomática no estaba asociada al incremento de la tasa de partos pretérmino cuando se ajustaron los datos a los factores demográficos y sociales (44). Sin embargo es importante recordar que la bacteriuria asintomática no tratada puede llevar a pielonefritis, la cual, por la respuesta inflamatoria sistémica que genera puede producir cambios cervicales secundarios a la liberación de prostaglandinas. Es bien conocido que las paciente multigestantes tienen mayor riesgo de tener un parto pretérmino (45) sin embargo en este estudio no se encontró diferencia entre los casos y los controles. Si bien no se observó diferencia entre los dos grupos en cuanto a la cantidad de los controles prenatales llevados durante el embarazo, sí llama la atención que en ambos grupos un gran

porcentaje de las paciente tenían menos de tres controles, 39.5% para parto pretérmino y 23% para parto a término, esto podría explicar porque no hubo correlación entre la variable de infección vaginal con la de la literatura mundial, pues en algunos casos era difícil saber con certeza si la paciente había presentado o no una infección vaginal durante la gestación.

No se evidenció diferencia entre los casos y los controles en cuanto a las pacientes a las que se les diagnosticó corioamnionitis antes o después del parto, lo cual contrasta con la literatura mundial, pues se ha visto que el la infección intraamniótica es más frecuente en los partos pretérmino, observándose en un tercio de los casos de pacientes con trabajo de parto pretérmino con membranas íntegras y un 40% en pacientes con ruptura de membranas pretérmino (46). Cabe aclarar que en nuestras pacientes la corioamnionitis fue diagnosticada clínicamente por los signos clínicos de la paciente o el aspecto de los productos ovulares después del alumbramiento, ya que en el Hospital simón bolívar no se toman rutinariamente cultivos de líquido amniótico ni tejido placentario, a diferencia de los estudios citados en los cuales el diagnóstico de hacía con cultivo y análisis histológico de las placentas.

Al analizar por separado cada una de las manifestaciones clínicas de corioamnionitis, se evidenció que la taquicardia materna materna y fetal se asociaron con parto pretérmino pero la fiebre y la descarga vaginal fétida no; estas variables sólo tienen importancia en el contexto de diagnóstico de corioamnionitis, lo cual al analizar los resultados del laboratorio no se encontró ninguna asociación significativa de ninguna de la variables clínicas con ninguno de los microorganismos identificados, aunque sí hubo asociación entre las pacientes con diagnóstico de corioamnionitis por hallazgos postparto y la presencia de microorganismos en placenta. En un estudio Horvath et al (47) analizó los hallazgos histológicos de 2875 placentas de pacientes que tuvieron parto a término y 1452 pretérmino, la histología reveló inflamación sugestiva de infección en un 13% de todas las placentas, la corioamnonitis subclínica fue confirmada en 142 de los 2785 partos a término (5.1%) y en 436 de los 1452 partos pretérmino (30.0% p 0.001); también se encontró que de las pacientes que presentaron manifestaciones clínicas propias de corioamnionitis sólo el 8.3% presentaron cultivos positivos. De lo anterior podemos inferir que los signos clínicos

de corioamnionitis se asocian pobremente con la identificación de microorganismos en tejido placentario, y que a la vez gran parte de los casos de corioamnionitis son subclínicas.

En este estudio encontramos un mayor número de microorganismos identificados en los tejidos placentarios de las pacientes con parto a término en comparación con las pacientes con parto pretérmino, a diferencia de publicaciones que sí reportan una asociación de la presencia de microorganismos con parto pretérmino (47,48). Una posible explicación a este hallazgo es que las pacientes con trabajo de parto a término son examinadas con tacto vaginal más frecuentemente que las pacientes con trabajo de parto pretérmino, ya que el hospital Simón Bolívar es un hospital universitario, contribuyendo así a la colonización de los tejidos ovulares.

Tal vez el hallazgo más sorprendente del estudio fue la poca cantidad de cultivos positivos (1.8%), contrario a múltiples estudios que demuestran una clara asociación entre aislamiento de microorganismos en tejido placentario, inflamación placentaria y parto pretérmino (48), sin embargo hay que tener en cuenta que muchas de estas pacientes estaban hospitalizadas con tratamiento antibiótico ya sea por ruptura prolongada de membranas, infecciones asociadas o simplemente la profilaxis antibiótica previa a la cesárea. En un estudio retrospectivo realizado en Nueva Zelanda, los tejidos placentarios de 412 pacientes que tuvieron parto durante un periodo de un año fueron sometidos a cultivo y estudio histológico, sólo el 4.6% de las placentas sometidas a cultivo arrojaron un resultado positivo, dándole así con valor limitado a la realización de cultivos placentarios de rutina para el diagnóstico de corioamnionitis (49).

Una de las debilidades de este estudio es que no se excluyeron las pacientes que tuvieron parto pretérmino por otras indicaciones diferente al trabajo de parto o ruptura de membranas espontáneas, contribuyendo así a que una mayor cantidad de tejidos placentarios arrojan resultados negativos sumado al número de pacientes que recibían antibióticos por cualquier indicación. Parece ser que el cultivo rutinario de placentas para el diagnóstico de corioamnionitis carece de utilidad debido a la pobre asociación encontrada con las variables clínicas que generalmente dictan el diagnóstico

11. Conclusiones

- Los signos clínicos de corioamnionitis (fiebre, amniorrea fétida, taquicardia materna y fetal) se correlacionan pobremente con la identificación de microorganismos en el tejido placentario.
- La presencia de vaginosis se asocia a una mayor presencia de microorganismos en la placenta.
- La duración del trabajo de parto mayor a 12 horas se asocia a una mayor frecuencia de identificación de microorganismos en tejido placentario.
- El microorganismo que se asocia a factores de riesgo tales como vaginosis y duración prolongada del trabajo de parto es el *M. hominis*.
- La detección de microorganismos en la placenta para el diagnóstico de corioamnionitis carece de utilidad debido a la pobre asociación encontrada con las variables clínicas que generalmente dictan el diagnóstico.

12. Referencias bibliográficas

1. Alan T. N. Tita, William W. Andrews. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clin Perinatol*. 2010 June ; 37(2): 339–354.
2. Jessica E. Ericson, Matthew M. Laughon, Chorioamnionitis : Implications for the Neonate. [Clinics in Perinatology Volume 42, Issue 1](#), March 2015, 155–165 .
3. Eschenbach DA. Ureaplasma urealyticum and premature birth. *Clin Infect Dis* 1993;17.
4. Gibbs RS, Duff P. Progress in pathogenesis and management of clinical intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1317.
5. Newton ER. Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Clin Obstet Gynecol* 1993;36:795.
6. Stock, Kelly RW, Riley, Calder. Natural antimicrobial production by the amnion. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196(3):255.
7. Abrahams VM, Potter JA, Bhat G, Peltier MR, Saade G, Menon R. Bacterial modulation of human fetal membrane Toll-like receptor expression. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Jan;69(1):33-40.
8. Soper DE, Mayhall CG, Dalton HP. Risk factors for intraamniotic infection: a prospective epidemiologic study. *Am J Obstet Gynecol* 1989;1
9. Yoon BH, Romero R, Moon JB, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(5):1130–6.
10. Seong HS, Lee SE, Kang JH, et al. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199(4):375.e1–5.
11. Rouse DJ, Landon M, Leveno KJ, et al. The Maternal-Fetal Medicine Units cesarean registry: chorioamnionitis at term and its duration-relationship to outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:211.
12. Cheng YW, Delaney SS, Hopkins LM, Caughey AB. The association between the length of first stage of labor, mode of delivery, and perinatal outcomes in women undergoing induction of labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;201(5):477.e1.

13. Cahill AG, Duffy CR, Odibo AO, Roehl KA, Zhao Q, Macones GA. Number of cervical examinations and risk of intrapartum maternal fever. *Obstet Gynecol.* 2012;119(6):1096.
14. Goldenberg RL, Andrews WW, Hauth JC. Choriodecidual infection and preterm birth. *Nutr Rev* 2002;60(5 Pt 2):S19–25.
15. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(4):757.
16. Apantaku O, Mulik V. Maternal intra-partum fever. *J Obstet Gynaecol* 2007; 27(1):12–5.
17. ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG Practice Bulletin No. 80: premature rupture of membranes. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Obstet Gynecol* 2007;109(4):1007–19.
18. Greenberg MB, Anderson BL, Schulkin J, Norton ME, Aziz N. A first look at chorioamnionitis management practice variation among US obstetricians. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2012;2012:628362. Epub 2012 Dec 23.
19. Wu HC, Shen CM, Wu YY, et al. Subclinical histologic chorioamnionitis and related clinical and laboratory parameters in preterm deliveries. *Pediatr Neonatol* 2009;50(5):217–21.
20. Van de Laar R, van der Ham DP, Oei SG, et al. Accuracy of C-reactive protein determination in predicting chorioamnionitis and neonatal infection in pregnant women with premature rupture of membranes: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;147(2):124–9.
21. Gauthier DW, Meyer WJ. Comparison of gram stain, leukocyte esterase activity, and amniotic fluid glucose concentration in predicting amniotic fluid culture results in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167(4 Pt 1):1092.

22. Romero R, Yoon BH, Mazor M, Gomez R, Gonzalez R, Diamond MP, Baumann P, Araneda H, Kenney JS, Cotton DB. A comparative study of the diagnostic performance of amniotic fluid glucose, white blood cell count, interleukin-6, and gram stain in the detection of microbial invasion in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Oct;169(4):839-51.

23. Hoskins IA, Marks F, Ordorica SA, Young BK. Leukocyte esterase activity in amniotic fluid: normal values during pregnancy. *Am J Perinatol.* 1990 Apr;7(2):130-2.
24. Abdel-Razeq SS, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Rosenberg VA, Dulay AT, Han CS, Werner EF, Thung S, Buhimschi CS. Interpretation of amniotic fluid white blood cell count in "bloody tap" amniocenteses in women with symptoms of preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):344.
25. Kim KW, Romero R, Park HS, Park CW, Shim SS, Jun JK, Yoon BH. A rapid matrix metalloproteinase-8 bedside test for the detection of intraamniotic inflammation in women with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Sep;197(3):292.e1-5.
26. Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim G, Jun JK. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(5):1130.
27. Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, Rael J, Grove T, Morgan TK, Clewell W, Miller H, Luthy D, Pereira L, Nageotte M, Robilio PA, Fortunato S, Simhan H, Baxter JK, Amon E, Franco A, Trofatter K, Heyborne K. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Feb;210(2):125.e1-125.e15.
28. Combs CA, Garite TJ, Lapidus JA, Lapointe JP, Gravett M, Rael J, Amon E, Baxter JK, Brady K, Clewell W, Eddleman KA, Fortunato S, Franco A, Haas DM, Heyborne K, Hickok DE, How HY, Luthy D, Miller H, Nageotte M, Pereira L, Porreco R, Robilio PA, Simhan H, Sullivan SA, Trofatter K, Westover T. Detection of microbial invasion of the amniotic cavity by analysis of cervicovaginal proteins in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(4):482.e1.
29. Gojnic M, Fazlagic A, Pervulov M, Petkovic S, Mostic T, Jeremic K. The significance of C-reactive protein in the diagnosis of fetal tachycardia and therapy of chorioamnionitis. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2005;32(2):114.
30. Hitti J, Lapidus JA, Lu X, Reddy AP, Jacob T, Dasari S, Eschenbach DA, Gravett MG, Nagalla SR. Noninvasive diagnosis of intraamniotic infection: proteomic biomarkers in vaginal fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(1):32.e1.

31. Chapman E, Reveiz L, Illanes E, Bonfill Cosp X. Antibiotic regimens for management of intra-amniotic infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;12:CD010976.
32. Lyell DJ, Pullen K, Fuh K, Zamah AM, Caughey AB, Benitz W, El-Sayed Y. Daily compared with 8-hour gentamicin for the treatment of intrapartum chorioamnionitis: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* 2010;115(2 Pt 1):344.
33. Mackeen AD, Packard RE, Ota E, Speer L. Antibiotic regimens for postpartum endometritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Feb;2:CD001067.
34. Smulian JC, Shen-Schwarz S, Vintzileos AM, Lake MF, Ananth CV. Clinical chorioamnionitis and histologic placental inflammation. *Obstet Gynecol.* 1999;94(6):1000.
35. Black LP, Hinson L, Duff P. Limited course of antibiotic treatment for chorioamnionitis. *Obstet Gynecol.* 2012;119(6):1102.
36. Dinsmoor MJ, Newton ER, Gibbs RS. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral antibiotic therapy following intravenous antibiotic therapy for postpartum endometritis. *Obstet Gynecol.* 1991;77(1):60.
37. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 106: Intrapartum fetal heart rate monitoring: nomenclature, interpretation, and general management principles. *Obstet Gynecol.* 2009;114(1):192.
38. Impey LW, Greenwood CE, Black RS, Yeh PS, Sheil O, Doyle P. The relationship between intrapartum maternal fever and neonatal acidosis as risk factors for neonatal encephalopathy. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(1):49.e1.
39. Yoon BH, Romero R, Moon JB, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(5):1130–6.
40. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W, ORACLE Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial. *ORACLE Collaborative Group. Lancet* 2001; 357(9261):979–88.
41. Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, et al. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from the CDC. *MMWR* 2002;51(No. RR-11): 1–22.
42. Mercer BM. Preterm premature rupture of the membranes: current approaches to evaluation and management. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2005; 32:411.

43. Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1737.
44. Meis PJ, Michielutte R, Peters TJ, et al. Factors associated with preterm birth in Cardiff, Wales. I. Univariable and multivariable analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:590.
45. Iams JD. Prediction and early detection of preterm labor. *Obstet Gynecol* 2003; 101:402.
46. Yoon BH, Romero R, Moon JB, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:1130.
47. Boldizsár Horvath*, Ferenc Lakatos, Csaba Tóth, Tamás Bödecs and József Bódis. Silent chorioamnionitis and associated pregnancy outcomes: a review of clinical data gathered over a 16-year period *J. Perinat. Med.* 2014; 42(4): 441–447
48. Correlation between placental bacterial culture results and histological chorioamnionitis: a prospective study on 376 placentas Vanessa Queiros da Mota,¹ Guy Prodhom,² Pu Yan,¹ Patrick Hohlheld,³ Gilbert Greub,² Caroline Rouleau¹. *J Clin Pathol* 2013;66:243–248.
49. Kavita Bhola, Hunaina Al-Kindy, Mitali Fadia, Alison L. Kent, Peter Collignon and Jane E. Dahlstrom. Placental cultures in the era of peripartum antibiotic use. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology.* 2008; 48: 179-184.
50. Castillo DM, Sánchez-Beltrán MC, Castellanos JE, Sanz I, Mayorga-Fayad I, Sanz M, Lafaurie GI. Detection of specific periodontal microorganisms from bacteraemia samples after periodontal therapy using molecular-based diagnostics. *J Clin Periodontol.* 2011;38(5):418-27.
51. Mahmoudi Rad M, Zafarghandi ASh, Amel Zabihi M, Tavallae M, Mirdamadi Y. Identification of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis by multiplex PCR. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2012.