



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN**



**“CUANTIFICACIÓN DE CUERPOS LAMELARES EN LÍQUIDO AMNIÓTICO POR
ASPIRACIÓN DE JUGO GÁSTRICO PARA DETERMINAR SÍNDROME DE
DIFICULTAD RESPIRATORIA EN RECIÉN NACIDOS”.**

TESIS

**DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO
DE LA ESPECIALIDAD DE
NEONATOLOGÍA**

PRESENTA:

IRVING AGUSTÍN SOTO CASTELLANOS

DIRECTORES DE TESIS:

DRA. NORA SELENE MARTÍNEZ FÉLIX

Jefe del curso en la especialidad de Neonatología del Hospital Civil de Culiacán.

DR. FELIPE PERAZA GARAY

**Asesor estadístico, doctor en ciencias con orientación en
probabilidad y estadística.**

DRA. PERLA GUTIÉRREZ ARZAPALO

**Doctorado en farmacología y fisiología.
Miembro del Depto. de investigación de CIDOCS.**

CULIACÁN, SINALOA; A 5 DE FEBRERO DE 2019



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN**



**“CUANTIFICACIÓN DE CUERPOS LAMELARES EN LÍQUIDO AMNIÓTICO POR
ASPIRACIÓN DE JUGO GÁSTRICO PARA DETERMINAR SÍNDROME DE
DIFICULTAD RESPIRATORIA EN RECIÉN NACIDOS”.**

TESIS

**DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO
DE LA ESPECIALIDAD DE
NEONATOLOGÍA**

**PRESENTA:
IRVING AGUSTÍN SOTO CASTELLANOS**

**DIRECTORES DE TESIS:
DRA. NORA SELENE MARTÍNEZ FÉLIX
Jefe del curso en la especialidad de Neonatología del Hospital Civil de Culiacán.**

**DR. FELIPE PERAZA GARAY
Asesor estadístico, doctor en ciencias con orientación en
probabilidad y estadística.**

**DRA. PERLA GUTIÉRREZ ARZAPALO
Doctorado en farmacología y fisiología.
Miembro del Depto. de investigación de CIDOCS.**

CULIACÁN, SINALOA; A 05 FEBRERO DE 2019

Dr. Carlos Fernando Corona Sapién
Director general de CIDOCS

Dra. Erika María Celis Aguilar
Dirección de enseñanza CIDOCS/HCC

Dr. Edgar Dehesa López
Subdirector de investigación CIDOCS

Dra. Nora Selene Martínez Félix.
Director de tesis
Pediatra neonatólogo.
Jefe del servicio de neonatología del HCC.

Dr. Felipe Peraza Garay
Asesor estadístico
Doctor en ciencias con orientación en
probabilidad y estadística

Dra. Perla Gutiérrez Arzapalo
Doctorado en farmacología y fisiología.
Miembro del Depto. de investigación de CIDOCS.

Agradecimientos:

El presente trabajo de investigación fue realizado bajo la supervisión de la Dra. Martínez Nora Selene y el Dr. Martínez Jesús Javier a quienes me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento, por hacer posible la realización de este estudio. Además de agradecer su paciencia, tiempo y dedicación que tuvieron para que esto saliera de manera exitosa.

A mis padres por estar siempre conmigo y el terminar la residencia fue gracias a ellos, a mis maestros por sus enseñanzas y la experiencia compartida, a mi esposa Paulina por haber estado siempre cuando más la necesitaba y a dios por haberme dado la oportunidad de haber tenido esta experiencia de ser especialista.

Índice	pág.
1) CAPITULO I: Marco teórico	8
2) CAPITULO II: Planteamiento del problema.....	15
3) CAPITULO III: Justificación.	16
4) CAPITULO IV: Hipótesis.	17
5) CAPITULO V: Objetivo general y específico.	17
6) CAPITULO VI: Material y Métodos	18
a) Diseño de estudio. Prospectivo, descriptivo, prueba diagnóstica.	18
b) Universo de estudio, lugar de realización y periodo de tiempo de realización del estudio.	18
c) Criterios de selección:	18
d) Análisis estadístico: Técnicas y métodos realizados.....	18
e) Recursos: Humanos, materiales	19
f) Variables de estudio	20
7) CAPITULO VII: Aspectos Éticos.....	21
g) Conflicto de interés.....	21
h) Información confidencial.....	21
8) CAPITULO VIII: Recursos y financiamiento.	21
9) CAPITULO IX: Resultados.	22
10) CAPITULO X: Discusión.	25
11) CAPITULO XI: Conclusión.	26

1) CAPITULO I: Marco teórico

Introducción.

Los recién nacidos pretermino (RNPT) se enfrentan a riesgos inherentes a la propia prematuridad tales como la enfermedad de membrana hialina o síndrome de dificultad respiratoria (SDR), hemorragia intracraneal, infecciones, anemia del prematuro, osteopenia del prematuro, retinopatía del prematuro, entre otras enfermedades asociadas con posibilidades de discapacidad visual, auditiva y problemas de aprendizaje¹; lo anterior relacionado a daño neurocognitivo a largo plazo, en el caso de las hemorragias intracraneales², así como enfermedad cardiovascular congénita, dilatación de cisuras, apnea, succión deficiente y vómito, con una mortalidad de 12% a un año de vida como complicaciones a corto plazo³, además, existe un aumento de la morbimortalidad asociada sobre todo a patología respiratoria neonatal cuya causa más frecuente es la inmadurez pulmonar fetal implicando un gasto elevado para las familias y los sistemas de salud.

Epidemiología.

Cada año se producen alrededor de 13 millones de nacimientos prematuros en el mundo, tan solo en Estados Unidos en 11%, en Europa varía de 5 a 7%, en México, el Instituto Nacional de Perinatología informa 19.7% de nacimientos prematuros⁴. La tasa de nacimientos prematuros, según la organización mundial de la salud (OMS), va de 5 a 18%, por lo que se estableció que deberá reducirse. Las estimaciones mundiales reportadas en 2010 refieren que 1.1 millones de neonatos murieron como consecuencia de las complicaciones que acompañan a la prematurez⁵. En México, la tasa de mortalidad perinatal ha disminuido en los últimos 20 años; sin embargo, existen regiones marginadas con elevada morbilidad y mortalidad infantil⁶.

En Estados Unidos, por ejemplo, el costo económico-social asociado con el parto prematuro en 2005 fue de 26.2 mil millones de dólares. Los costos médicos promedio del primer año en atención hospitalaria y ambulatoria fueron 10 veces mayores para los

prematuros que para los recién nacidos a término (RNT) y la estancia hospitalaria media fue nueve veces más prolongada⁷.

El manejo del parto, el nacimiento prematuro y la muerte neonatal continúan siendo uno de los problemas más frecuentes en la Salud Pública de nuestro país, además de las complicaciones más frecuentes en la perinatología ya que, a pesar de los grandes avances de la medicina moderna, constituye todavía un reto y punto de atención continua para el sistema de salud generando grandes costos para la sociedad y tiempos prolongados de estancia hospitalaria.

El SDR del recién nacido es un problema muy serio y común en los RNPT, considerando que, con el uso de esteroides prenatales, la presión positiva continúa temprana, y el surfactante postnatal han logrado disminuir la incidencia y severidad de este padecimiento; sin embargo, continúan generando altos costos hospitalarios, que muchas veces impiden poder contar con estos recursos en todos los medios hospitalarios de nuestro país.

Actualmente en países desarrollados han mejorado las tasas de sobrevivencia para los niños de 500 a 1000 g, que ahora son superiores al 50-70%. Lo anterior ha cambiado el concepto de viabilidad que existía previamente, que lo señalaba en 1000 g y 27 SDG, al peso de 500 g o 24-25 SDG; de hecho, ahora salen adelante, neonatos tan pequeños como de 650 gramos, de allí la importancia de la atención oportuna por todo el equipo de salud,⁸ sin embargo en México de acuerdo a la Secretaría de Salud, tan solo la mortalidad neonatal en 2003 fue de 9.1/1000 nacidos vivos y aunque ha mostrado un descenso de 40% respecto a 1980 en que fue de 16/1000 nacidos vivos, no ha sido tan significativo como el 60% de disminución en la mortalidad infantil (39.9/1 000 NV en 1980 a 16.6/1 000 NV en 2005), menos aun comparando en probable relación a que la mortalidad por infecciones intestinales y respiratorias han bajado en un 88% y un 70%, respectivamente, en el mismo lapso, con esto se marca totalmente la necesidad de aumentar la vigilancia oportuna de estos pacientes en todos los niveles de atención⁸. Por lo que debemos tener que el parto pretérmino especialmente el que ocurre antes de las 30 semanas, ha sido relacionado con la infección corioamniótica causada por una variedad de microorganismos y esto ha surgido como una posible explicación de muchos casos hasta ahora no explicados, de ruptura prematura de membranas o trabajo de parto pretérmino

o ambas cosas, esto representa además un gasto importante para las instituciones, por el tiempo de estancia, el equipamiento, el uso de recursos materiales y de personal capacitado que se necesita para la atención de estos pacientes.

En Estados Unidos ha ocurrido un aumento de la incidencia de parto pretérmino desde 9.4% en 1981 hasta 11.9% en el 2001⁹, mientras que, en Alemania se observó una reducción de la incidencia desde 7% en 1981 hasta 4% en 1989¹⁰. De acuerdo con el Departamento Nacional de Estadísticas (DANE) se ha informado una tasa global de parto pretérmino del 21% para el año 2010 con grandes diferencias regionales¹¹. En consecuencia, destacamos que el SDR y la prematurez siguen siendo hoy en día, la primera causa de hospitalización en las unidades de cuidados intensivo neonatales, asociado a patologías maternas, ovulares y fetales, o por indicación médica, este a su vez se considera es la segunda causa de morbilidad perinatal a nivel mundial y su incidencia se encuentra entre 8 y 10% de los nacimientos¹².

Antecedentes científicos.

Se ha observado que la necesidad de inducción del parto o de practicar operación cesárea antes del término ha ido en aumento, considerándose las múltiples causas por la que se haya determinado la interrupción, teniendo en cuenta lo que esto conlleva: SDR del neonato traducida en una incidencia inversamente proporcional con la edad gestacional y el peso al nacer; el 60-80% de los niños con edad gestacional inferior a 28 semanas, en el 15-30% de los que tienen una edad gestacional entre 32 y 36 semanas, en un 5% de lo que nacen con más de 37 semanas de edad gestacional, y de forma excepcional en los recién nacidos de término (RNT) con antecedente de patología materna como la diabetes gestacional los embarazos múltiples, los partos por cesárea, los trabajos de parto precipitados, la asfixia neonatal, entre otras¹³. Se requerirían pruebas de maduración pulmonar, por lo que podría ser evaluada mediante técnicas especiales de bajo costo y rápidas de realizar, incluso al momento del nacimiento, siendo un determinante precoz para determinar la madurez pulmonar y la valoración del inicio temprano y oportuno del tratamiento de estos prematuros, proponiendo precisamente en

este estudio la prueba de cuantificación de cuerpos lamelares (CL) por aspiración de jugo gástrico (JG) en pacientes con riesgo de padecer esta enfermedad, brindando información útil para estimar la necesidad de atención oportuna con la aplicación de surfactante lo que nos llevaría a evitar morbilidades posteriores.

Recordando un poco de fisiología, el líquido pulmonar es rico en Na, Cl y pobre en proteínas y HCO₃ en relación al líquido amniótico (LA), facilitando el drenaje a través de la boca durante el parto vaginal; el resto pasa a los capilares linfáticos y pulmonares; la absorción es rápida pues en 6 minutos se establece una capacidad residual funcional normal. Por lo anterior, habitualmente el pulmón logra estar bien aireado en los primeros segundos de la vida, sin embargo, cualquier alteración en estos mecanismos de adaptación, provocarán alguna patología pulmonar¹³. El surfactante es producido en los neumocitos tipo II del alvéolo este a su vez es ensamblado y almacenado en los cuerpos lamelares y éstos son transportados por exocitosis a la capa líquida del alvéolo y forma la estructura llamada mielina tubular, esta monocapa de surfactante disminuye la tensión superficial en la interfaz aire-líquido reemplazando el agua en la superficie. Los fosfolípidos desde la monocapa pueden reentrar al neumocito tipo II por endocitosis y formar cuerpos multivesiculares, los que son reciclados por la incorporación rápida a los cuerpos lamelares o degradados en los lisosomas¹⁴. En resumen los cuerpos lamelares son estructuras dispuestas concéntricamente producidas por los neumocitos tipo II, una estructura de mielina tubular cuyo contenido en fosfolípidos cambia con la maduración del pulmón fetal, consisten casi enteramente de fosfolípidos y representan la forma de almacenamiento del surfactante pulmonar y ello a medida que el pulmón fetal madura, aumenta la producción de los CL, es así estos son llevados al LA mediante la respiración fetal y posterior exudación¹⁵.

Se conoce hasta la actualidad que los estudios directos para corroborar la maduración pulmonar fetal no son posibles; ya que todas las pruebas con las que se cuenta son de evaluación indirecta, con alto índice de complicaciones por lo que se han ido desarrollando nuevas técnicas a través de los años. Recordando que en 1971, Gluck describió por primera vez la relación lecitina/esfingomielina (L/S), estableció que una relación $L/S > 2$ es considerado un indicador de madurez pulmonar, desde entonces se conoce como el patrón de oro para el diagnóstico de maduración pulmonar fetal¹⁶, no

obstante, la disponibilidad de la prueba es muy limitada incluso en medios con alta tecnología lo que ha estimulado la búsqueda de pruebas alternativas; además es una prueba técnicamente difícil de realizar, por la manipulación de la muestra y las condiciones de almacenamiento, además de tardar varias horas en realizarla. Se conoce que partir de la semana 22 y 24 inicia la producción del LA, pero la función activa es adecuada hasta a partir de las 35 y 36¹⁷.

La existencia del surfactante se descubrió en los años 50, considerándose un complejo lipoprotéico que, en los pulmones de mamíferos, el 90% de la composición del surfactante corresponde a material lipídico; entre el 8% y el 10% a proteínas.¹⁸¹⁸ Su composición consta como ya se mencionó de: Fosfolípidos en un 80% (fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina), Proteínas en un 10% (proteínas del surfactante, conocidas como sp-a, sp-b, sp-c y sp-d), lípidos en otro 10% (fundamentalmente colesterol). De todos sus componentes, la fosfatidilcolina es la principal sustancia tensoactiva¹³.

En los últimos años, se ha descubierto que la ausencia o deficiencia de alguna de las proteínas está asociado a cuadros de SDR de gran severidad y si este es por deficiencia de proteína B sería incompatible para la vida por ser la proteína que realmente da la función en la disminución de la resistencia alveolar, tanto en RNPT y RNT. Otras pruebas para evaluar la madurez pulmonar fetal en muestras de líquido amniótico aparecieron con el paso de los años, como la determinación de fosfatidilglicerol (PG) sin embargo como es un constituyente menor del surfactante y aparece más tardíamente en la gestación,¹⁶¹⁶ no ayuda a determinar el riesgo de SDR en neonatos pretérminos por lo que en edades gestacionales tempranas su valor predictivo para morbilidad respiratoria neonatal es muy limitado aunque tenga la ventaja que la presencia de sangre o meconio normalmente no afectaría sus resultados.

Otra prueba por mencionar es la relación surfactante/albúmina (S/A) que fue descrita por Shinitzky en 1976 sin embargo actualmente no se encuentra disponible. En 1972, Clements describió otra prueba para SDR que consistía en agitación; usando líquido amniótico y un volumen igual de etanol al 95%; sin embargo, esta prueba tiene la

desventaja de la subjetividad en la lectura, pero muchos falsos negativos por lo que también queda descartada como utilidad¹².

Ahora bien, refiriéndonos específicamente en la técnica que se realizó en este estudio conocida como técnica de conteo de CL la cual fue introducida por primera vez por Dubin, en 1989; que consiste en contabilizar el surfactante secretado del citoplasma de los neumocitos tipo II en forma de CL luego son secretados al espacio alveolar sin embargo a pesar de ser óptima y fácil de realización en ese momento no se contaba con el equipo biomédico para realizarse. Actualmente lo anterior es posible con la introducción de equipos más sofisticados que realiza este conteo de la misma manera que se hace el conteo de plaquetas en una muestra para biometría hemática. Una forma indirecta de evaluar la cantidad de CL es medir la opacidad del líquido amniótico mediante la densidad óptica a 650 nm. En general, el surfactante está presente en suficiente cantidad en los pulmones a partir de la semana 36 de EG, sin embargo, prenatalmente, hay situaciones que aceleran la aparición del surfactante y por lo tanto la maduración pulmonar por la situación de estrés generado en el feto tales como la hipertensión materna, el crecimiento intrauterino retardado, los corticoides y los tocolítics. Mientras que la DG, el hidrops, la asfixia, la hipoxemia, la colestasis del embarazo, el hipotiroidismo materno entre otras la retrasa¹⁹.

Dado que el SDR sigue siendo una de las causas más comunes de morbilidad neonatal, los test para evaluar la maduración pulmonar fetal juegan un papel importante en establecer las estrategias obstétricas a seguir. El análisis tradicional del Líquido Amniótico (LA) incluía los test biofísicos de madurez pulmonar (perfil fosfolípido) tales como el Test de Clements, Ft50 (Test de Freer), FSI (Foam Stability Index) y lectura espectrofotométrica a 600 nm que brindaban un resultado semicuantitativo de la cantidad de fosfolípidos presente en la muestra de LA. El Índice Lecitina/Esfingomielina (L/E) descrito por Gluck, usado para establecer la maduración pulmonar fetal y el SDR en neonatos ha demostrado ser menos confiable en tres circunstancias específicas: a) valores de L/E entre 1,5 y 1,9; b) diabetes y otras complicaciones del embarazo; y c) en LA contaminados con sangre o meconio. Según la experiencia efectuada con L/E utilizando la técnica tradicional y Fosfatidilglicerol con dos técnicas (tradicional y rápida) se pudo establecer que a nivel asistencial son difíciles de estandarizar analíticamente,

por lo cual los resultados no son reproducibles ni comparables entre distintos laboratorios (sobre todo en los casos border-line), debido a que son procedimientos artesanales sujetos a la habilidad del operador, insumen gran cantidad de tiempo (por los pasos de precipitación, extracción y corrida cromatográfica), lo que va en desventaja con la necesidad de un resultado inmediato cuando el obstetra debe tomar una conducta urgente en los embarazos de alto riesgo (amenaza de parto prematuro, ruptura prematura de membranas, retardo del crecimiento intrauterino, diabetes, hipertensión, etc.).

Es por lo anterior y ante el avance de las nuevas metodologías cualitativas - cuantitativas para la determinación de diferentes componentes en cualquier líquido biológico sujetas a controles de calidad analítica, que este estudio pretende ensayar el conteo de CL en JG del RN como test rápido predictor de madurez pulmonar fetal confiable, y fácil de estandarizar. A pesar de conocer que el recuento de CL es una prueba muy sencilla, está ampliamente disponible y tiene bajos costos no se conocen bien sus características operativas y no ha sido evaluado sistemáticamente en nuestro medio. Los CL desde muy tempranas edades aparecen en el citoplasma de los neumocitos fetales entre las 20 y 24 semanas de gestación y en el LA a partir de la semana 26 y según Wesley, en el 50% de las muestras de 28-32 semanas y en el 85% de las muestras a término se detecta la presencia de CL²⁰.

Así mismo y de acuerdo a lo que se ha descrito, este estudio trascenderá en un futuro como prueba clínica de conteo de CL con riesgo a presentar SDR y valorar la administración temprana de surfactante aunado al manejo; si estuviesen disminuidos según el punto de cohorte en nuestro estudio disminuiría las estadísticas de morbimortalidad y costos durante la estancia intrahospitalaria.

2) CAPITULO II: Planteamiento del problema.

¿CUÁL ES EL PUNTO DE CORTE DE LOS CUERPOS LAMELARES EN LÍQUIDO AMNIÓTICO OBTENIDO POR ASPIRACIÓN DE JUGO GÁSTRICO DE RECIÉN NACIDOS PARA DIAGNOSTICO DE SDR?

El SDR es un cuadro clínico que ocurre en RN especialmente en los prematuros, y que está asociado al déficit de surfactante alveolar en el pulmón inmaduro de los neonatos. Su incidencia está relacionada con la edad gestacional y el peso al nacer. A nivel mundial es la causa más frecuente de ingreso en el área de neonatología, especialmente en el área de cuidados intensivos neonatales, durante los últimos 20 años; actualmente la mortalidad neonatal es responsable del 67% del total de defunciones de los menores de un año (77% de esas defunciones de menores de 28 días ocurre en la primera semana de vida). Los RN de bajo peso de nacimiento, representan el 1% del total de nacimientos y contribuyen con un 42,7% de la mortalidad infantil. Por otra parte, el SDR, con sus distintas etiologías, afecta a un 1,0 % de los nacidos vivos, es decir a unos 2.500 casos/año (2002-2003). Estos representan cerca de un 7 a 10% de los ingresos a las Unidades de Cuidado Intensivo Neonatal (UCIN).

La creciente atención de los RNPT en los hospitales y UCIN hace necesario disponer de esteroides prenatales, presión positiva continúa temprana, y surfactante postnatal, generando altos costos hospitalarios, que muchas veces impiden contar con estos recursos en todos los medios hospitalarios; es por este motivo, se considera esta casa hospitalaria como zona de estudio, donde se tomaron muestras de líquido amniótico obtenido por aspiración de JG a todos los RN durante el periodo de 1 de Abril al 31 de Diciembre del 2018, estableciendo el punto de cohorte de los CL en JG de los RNPT comparados con los RNT con SDR.

El impacto sobre la prevención oportuna de esta enfermedad se hace sentir no solo en los pacientes afectados, sino también en sus familias y la sociedad. De lo contrario esto provoca el deterioro en la salud y en muchos casos prolonga la permanencia en los

hospitales, aumentado costos directos del cuidado del paciente que va en perjuicio de la economía institucional y familiar.

3) CAPITULO III: Justificación.

El SDR es una patología que sigue siendo objeto de suma preocupación por parte de organismos locales, nacionales e internacionales, con el objetivo de disminuir las tasas de morbilidad neonatal y los costos, nace la necesidad de realizar este estudio que nos genere información para la toma de decisiones de manera precoz y segura, tomando en cuenta los diversos factores de riesgo relacionados para desarrollar la enfermedad. La DG es otro factor de presentar embarazos con fetos macrosómicos con alto riesgo de producir surfactante de mal calidad y riesgo de producir la enfermedad a nacer. Las infecciones durante el periodo gestacional, son otro factor importante en el desarrollo de la enfermedad por consumo del surfactante independientemente de la edad gestacional.

Es importante conocer el impacto real de los diferentes factores de riesgo pre natales sobre la severidad de la enfermedad para conocer su comportamiento en nuestra población y poder identificar los pacientes que son de mayor riesgo a desarrollarla y tomar decisiones terapéuticas oportunas, manejos tempranos y disminuir la severidad de la patología.

Beneficios esperados.

El objetivo de este estudio es contar con una prueba clínica, rápida y fácil de realizar durante los primeros 45 minutos de vida post natal en RN con factores de riesgo para desarrollar SDR, por conteo de CL en aspirado de JG, observando la necesidad de manejo ventilatorio y terapéutico con la aplicación de surfactante durante su estancia intrahospitalaria. No existe un estudio hasta la fecha reportado en la bibliografía donde se ejecute este tipo de prueba clínica para el SDR solo existen dos estudios pilotos que aún están en investigación observacional, a partir de esto, se puede establecer una tendencia a reservar la aplicación de surfactante exógeno a los RN que presenten un conteo de CL por debajo del punto de cohorte en líquido amniótico por aspiración de JG,

y así poder disminuir los costos, tiempos de estancia hospitalaria, y complicaciones. Además, tiene un aporte científico ya que permite poner en marcha nuevos proyectos que beneficien y mejoren la calidad de vida de los neonatos con factores de riesgo para desarrollar la enfermedad.

4) CAPITULO IV: Hipótesis.

El número de CL lamelares será menor en los RN con SDR.

5) CAPITULO V: Objetivo general y específico.

OBEJTIVO GENERAL:

- Comparar el número de CL en RN con SDR.

OBJETIVO ESPECIFICO

- Determinar el punto de corte del conteo de CL por aspirado de jugo gástrico que proporcione la mayor sensibilidad y especificidad para diferenciar los recién nacidos que presentaron SDR y los sanos.
- Determinar el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de esta prueba diagnóstica en base al conteo de CL en recién nacidos con SDR.
- Conocer en base al conteo de CL a quién se le administro surfactante exógeno en recién nacidos con SDR.
- Observar el manejo ventilatorio y aplicación de surfactante a los RN con SDR en base al conteo de CL.

6) CAPITULO VI: Material y Métodos

a) Diseño de estudio. Prospectivo, descriptivo, prueba diagnóstica.

b) Universo de estudio, lugar de realización y periodo de tiempo de realización del estudio.

La población estudio de esta investigación son los nacidos en el HCC del periodo comprendido del 01 de abril al 31 de diciembre del 2018.

c) Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

1. RN que hayan nacido en el período del 01 de abril al 31 de diciembre de 2018.

Criterios de exclusión:

1. A los RN con presencia de líquido amniótico con meconio.

Criterios de eliminación:

1. A los que NO cumplieran con el tiempo posterior al nacimiento para la toma de la muestra de JG.

d) Análisis estadístico: Técnicas y métodos realizados.

Se obtuvieron muestras de líquido amniótico por aspirado de JG de 167 RN para la presente investigación, donde se reportaron los CL utilizando un contador de células hematológicas a través del canal de plaquetas, (SYSMEX modelo XE-2100), en neonatos nacidos en el periodo establecido, realizaron los objetivos para obtener los resultados de esta investigación.

DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO:

Técnica para la obtención de jugo gástrico por aspirado con sonda de alimentación.

1. Preparar el equipo y verificar que este completo.

2. Realizar lavado de manos de acuerdo al procedimiento para higiene de manos.
3. Colocarse los guantes limpios.
4. Realizar la medición de la distancia a introducir la sonda (lóbulo de la oreja a la punta de la nariz y de aquí a un punto medio entre el ombligo y el apéndice xifoide) colocar la marquilla con cinta adhesiva.
5. Colocar al recién nacido en posición semi-sentado o decúbito lateral derecho.
6. Introducir la sonda por la boca lentamente, hasta la marquilla y conectar la jeringa
7. Realizar aspirado suave, observando las características y la cantidad del contenido gástrico.
8. Registrar el procedimiento.

INSTRUMENTO DE MEDICION:

Sysmex XE-2100 (Sysmex) Los analizadores Sysmex usaron fluorescencia, citometría de flujo e impedancia eléctrica para las mediciones de células.

Las muestras se obtuvieron a través de la colocación de una sonda orogástrica de acuerdo a la técnica previamente descrita dentro de sus primeros 45 min de nacimiento. Las muestras de jugo gástrico obtenidas por aspiración con sonda orogástrica se analizaron entre los 15 y 45 minutos posterior al nacimiento.

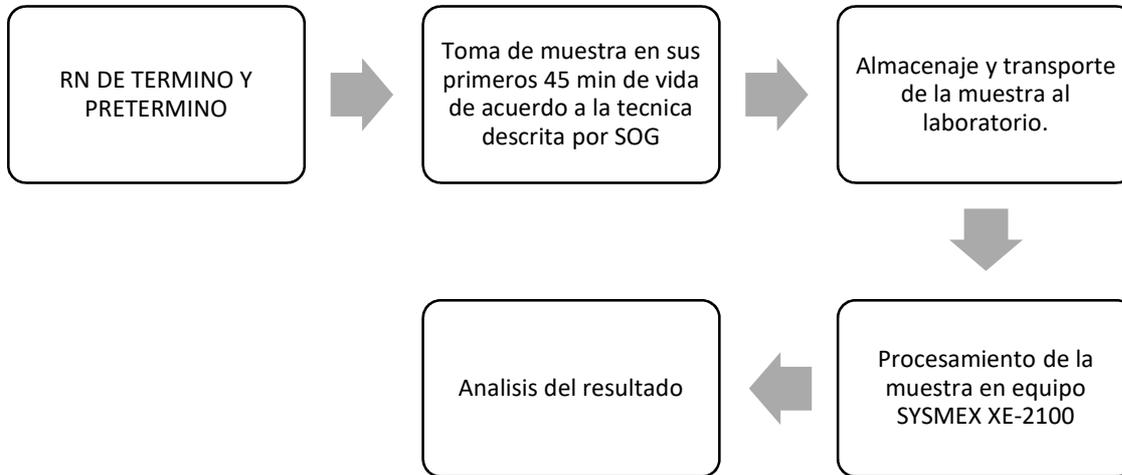
Antes de cuantificar los CL, las muestras se mezclaron suavemente y se analizaron en los contadores de sangre del canal de plaquetas del equipo Sysmex XE-2100. Los resultados se obtuvieron dentro de 15-60 segundos. Se considero como punto de corte las muestras con CL menor a 65.500 microlitros de acuerdo a la curva ROC y la AOC.

e) Recursos: Humanos, materiales

Humanos: Médico investigador, químicos farmacobiólogos.

Materiales: Equipo de análisis *Sysmex XE-2100*, sonda de alimentación 8 French, guantes estériles (par), jeringa estéril de 10 ml, tubo de ensayo.

DIAGRAMA DE FLUJO



f) Variables de estudio

-Variable independiente: Factores de riesgo

-Variable dependiente:

VARIABLE	DEFINICIÓN	CLASIFICACIÓN
Tipo de parto	Vía de nacimiento	Cualitativa, ordinal 1) Fisiológico 2) Cesárea
Genero	Características biológicas.	Cualitativa, discreta nominal Mujer: 1, Hombre: 2.
Peso	Característica biológica.	Cuantitativa, continua En kilogramos
Cuerpos lamelares	Característica biológica.	Cuantitativa En microlitros

Factor de riesgo (1,2,3,4)	Edad gestacional con o sin factores de riesgo agregados.	Cualitativa discreta nominal 1) Hijo de madre diabética 2) Rotura de membranas 3) Uso de esteroides prenatales 4) Uso de oxígeno
----------------------------	--	--

7) CAPITULO VII: Aspectos Éticos.

Las consideraciones éticas que se enuncian se derivan del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en seres humanos (SSA 1987). Según el artículo 17, se considera una investigación con riesgo mínimo, ya que se obtendrán muestras de líquido amniótico por aspirado de jugo gástrico. Se respetará la dignidad humana de los participantes.

g) Conflicto de interés.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

h) Información confidencial.

Tras la aceptación de ingresar al estudio el cual traerá beneficios al paciente con riesgos mínimos durante su obtención del material necesario para el estudio, en virtud del cual nos comprometemos al buen uso de la información recopilada, como datos personales, y resultados del estudio, sin embargo, al tratarse de un estudio de riesgo mínimo y observacional no fue necesario el consentimiento informado para esta investigación.

8) CAPITULO VIII: Recursos y financiamiento.

Todos los procedimientos y materiales en el estudio fueron cubiertos por la institución. También se cubrieron gastos médicos que requirió en caso de sufrir algún daño o lesión relacionada con la investigación. No se cubrieron estudios ni medicamentos que no estén relacionados con el estudio.

9) CAPITULO IX: Resultados.

Se analizaron un total de 167 muestras de líquido amniótico obtenidos por aspiración de jugo gástrico de los cuales 57.4% (n=96) fueron del sexo masculino y 42.6% (n=71) del sexo femenino, de estos el 33% (n=55) fueron RNPT y el 67% RNT (n=112).

En relación a los prematuros el 60% fue del sexo masculino y 40% del sexo femenino.

(ver tabla 1).

Tabla1. Relación de RNT y RNPT en base al sexo y tipo de parto.

		Término		Prematuro		Total
		Núm.	Porcentaje	Núm.	Porcentaje	
Sexo	Masculino	63	56.3%	33	60.0%	96
	Femenino	49	43.8%	22	40.0%	71
		112	67%	55	33%	167
Tipo de Parto	Fisiológico	67	59.8%	2	3.6%	69
	Cesárea	45	40.2%	53	96.4%	98
		112	100%	55	100%	167

De las 167 muestras analizadas el 40% (n=67) presentaron SDR. El 62.7% de ellos (n=42) fueron RNPT y el 37.3% (n=25) se presentó en RNT. *En los RN que presentaron SDR por la escala de SILVERMAN no se observó una p significativa para la muestra.*

Tabla 2. Relación de RN con SDR sin la prueba diagnóstica.

	Término		Prematuro		p
SDR leve	20	29.8%	25	37.3%	.185
SDR moderado	3	4.5%	13	19.4%	
SDR severo	2	3%	4	6%	
Total	25	37.3%	42	62.7%	

Del total de las muestras estudiadas, 38.9% (n=65) presentaron CL por debajo del punto de corte, de estos el 49.2% (n=32) presentaron SDR entre leve, moderado y severo, destacando una p significativa para SDR moderado y severo. (Ver tabla 3)

Tabla 3. Porcentaje de RN con SDR con CL menor al punto de corte (65.5) que ameritaron manejo con o sin oxígeno.

		Recién nacido				p
		Término	%	Prematuro	%	
Sin SDR	-Sin aporte O2	25	38.5%	8	12.3%	
SDR leve	-Puntas nasales	3	4.6%	14	21.5%	.924
SDR moderado	-Cpap nasal	3	4.6%	9	13.8%	.0001
SDR severo	-Ventilador	0	0%	3	4.6%	.028
		31	47.7%	34	52.3%	

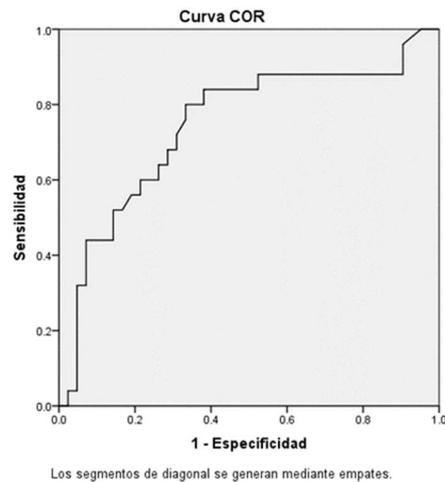
Se observo que la media de cuerpos lamelares es significativa en RNPT 96.6 ± 165.2 vs 165.9 ± 171.3 ; $p=0.014$. (Ver tabla 4).

Tabla 4. Media de conteo de Cuerpos lamelares en neonatos RNPT Y RNT.

			Desviación		P
	Prematuro	Núm.	Media	estándar	
Cuerpos lamelares	No	112	165.9	171.3	.014
	Si	55	96.6	165.2	

Se estimo la curva ROC para encontrar el mejor punto de corte en CL para diferenciar los RN que presentaron SDR. El AOC fue de .736 ($p=.000$). Un valor de 65.5 cuerpos lamelares da una sensibilidad de 66.7% y una especificidad de 76% para la presencia de SDR. (Ver Figura 1).

Figura 1 Curva de representación gráfica de la sensibilidad frente a la especificidad de la media del número de cuerpos lamelares. ROC (características operativas del receptor).



El valor predictivo positivo de esta prueba diagnóstica es del 82.4 y un valor predictivo negativo del 57.6.

De la misma manera el 13.8% (n=9) del total de los RN con SDR presentaron cuerpos lamelares por <10.00 requiriendo finalmente aplicación de surfactante durante su estancia intrahospitalaria. (Ver tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje de RN con SDR severo con CL menor a 10.00

Recién nacidos	LEVE	SDR MODERADO	SEVERO
Prematuros	2	1	3
De término	0	2	1
Total	2	3	4

Con respecto a la relación de aplicación de esteroides prenatales a los RNPT que presentaron CL por arriba del punto medio de cohorte (> 65.500) con SDR solo requirió manejo con apoyo de oxígeno con puntas nasales o sin apoyo del mismo. Los neonatos que presentaron SDR que tuvieron menos del punto de cohorte ($n=65$) el 23.5% requirió fase II o III de ventilación durante su estancia (ver tabla 3).

10) CAPITULO X: Discusión.

El SDR en los neonatos tienen un índice de morbilidad muy alta y es la principal causa de muerte en los neonatos que ingresan en las UCIN neonatales. Las estadísticas en nuestro hospital demuestran que durante el 2018 se reportaron 3,935 nacimientos; un 7.9% ($n=312$) se hospitalizaron; la mayoría por dificultad respiratoria, falleciendo el 3.2% ($n=10$) durante su estancia por diversas causas. De los 312 nacimientos hospitalizados, 208 RN fueron prematuros, de los cuales, 44 fueron entre 28 y 33 semanas de gestación (SDG) y 164 de 34 a 36.6 SDG, por lo que el diagnóstico y tratamiento precoz de los RN con SDR es esencial para prevenir complicaciones graves; desde el uso de esteroides prenatales, el adecuado control prenatal con tratamiento oportuno de las infecciones maternas, además de la intervención temprana como el manejo ventilatorio, y la aplicación de surfactante exógeno en caso necesario ya que puede resultar un sobretratamiento que pudiera incrementar los riesgos de las complicaciones y efectos secundarios de las intervenciones que debería evitarse. En la actualidad para el diagnóstico de SDR solo existe en los protocolos mundiales la escala de SILVERMAN ANDERSEN (SA) que es una prueba solo clínica del grado de dificultad respiratoria que se les aplica a todo RN a los 10 minutos de vida, sin embargo eso no garantiza que el neonato no presente la enfermedad posteriormente durante las primeras horas de vida, por lo cual es de vital importancia contar con una prueba diagnóstica que nos permita evaluar qué pacientes son los más idóneos para el manejo tanto ventilatorio como farmacológico de manera precoz de los neonatos que la presentaran; demostrando de igual manera que por sí sola la escala de SILVERMAN para el diagnóstico de SDR no es suficiente. En este estudio demostramos que de los 167 RN con SDR presentaron una $p=0.185$ no significativa comparada con los que si presentaron SDR que tuvieron un

conteo de CL por debajo del punto de cohorte: una p significativa de 0.0001 para SDR moderado y una $p=0.028$ para SDR severo; por lo que el contar con esta prueba la cual es rápida, económica y fácil de realizar, ayuda a diferenciar un diagnóstico temprano antes del desarrollo de la enfermedad. Lo anterior tendría un impacto en los cuidados neonatales, así como en tiempo de estancia y costos hospitalarios. El conteo de CL por la aspiración de JG en los primeros 45 minutos de nacimiento podría cambiar las estadísticas de morbimortalidad neonatal.

Este estudio estableció un punto de corte de CL para la presencia de SDR es de <65.5 microlitros ($p=.000$) dando una sensibilidad del 66.7% y una especificidad del 76%, obteniendo además un valor predictivo positivo del 82.4 y un valor predictivo negativo del 57.6, por lo cual se consideraría que esta prueba sería factible para la población de recién nacidos con factores de riesgo para la enfermedad, además que se cuenta con la tecnología adecuada para su medición. Los resultados obtenidos en otras investigaciones comparados con nuestros resultados fueron similares, reportando un punto de cohorte <10.00 con una sensibilidad de 72% y especificidad del 71%, pero solo enfocados para SDR severo²¹. Nuestro estudio en particular solo para SDR severo concluimos que el 44.4% coincidió con menor de <10.00 CL siendo el 75% RN prematuros; todos ellos requirieron la aplicación de surfactante durante el transcurso de su estancia hospitalaria. Ninguno de ellos falleció.

Actualmente a nivel nacional, no existe referencia de ningún estudio similar sobre el análisis de la madurez pulmonar mediante la prueba del conteo de cuerpos lamelares por aspirado de jugo gástrico como prueba no invasiva, por lo que incrementa la relevancia de este estudio favoreciendo la implementación del tratamiento oportuno, en la población neonatal afectada, por lo que se pretende integrar esta prueba diagnóstica en nuestra institución.

11) CAPITULO XI: Conclusión.

El conteo del CL en líquido amniótico por aspirado de jugo gástrico es una prueba prometedora, rápida y sencilla para predicción de SDR, esto significa que los neonatos que presenten SDR pueden ser diagnosticados precoz y correctamente, evitando el

retraso de la aplicación del tratamiento temprano, como el surfactante sin esperar a que el neonato consuma el mismo por la propia enfermedad, logrando así, el disminuir la estancia intrahospitalaria y sus comorbilidades asociadas, por ello la importancia de aumentar el tiempo de estudio y número de muestras con el fin de mejorar el índice de sensibilidad y especificidad óptima para la futura aplicación como prueba diagnóstica clínica temprana para SDR neonatal generando menos costos con mejor pronóstico de vida con la aplicación temprana de surfactante en aquellos que clínicamente presentan SDR de moderado a severo con conteo de CL menor de <10.00 previo a la colocación de CPAPn; probablemente se requiere mayor número de muestra siendo éste un estudio piloto para establecerlo como protocolo en las guías de manejo de SDR.

Referencias Bibliográficas:

1. Petrou S, Eddama O, Mangham L. A structured review of the recent literature on the economic consequences of preterm birth. Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition 2011;96:F225-32.
2. Macintyre-Beon C, Young D, Dutton GN, et al. Cerebral visual dysfunction in prematurely born children attending mainstream school. Documenta ophthalmologica Advances in ophthalmology 2013;127:89-102.
3. Sommers R, Tucker R, Harini C, Lupton AR. Neurological maturation of late preterm infants at 34 wk assessed by amplitude integrated electroencephalogram. Pediatric research 2013;74:705.
4. Ashwood ER, Palmer SE, Taylor JS, Pingree SS. Lamellar body counts for rapid fetal lung maturity testing. Obstetrics and gynecology 1993;81:619-24.
5. Liu L, Johnson HL, Cousens S, et al. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. Lancet (London, England) 2012;379:2151-61.
6. Egan LAV, Gutiérrez AKC, Cuevas MP, Lucio JR. Perfil epidemiológico del parto prematuro. Ginecología y Obstetricia de México 2008;76:542-8.
7. Doyle LW, Ford G, Davis N. Health and hospitalisations after discharge in extremely low birth weight infants. Seminars in neonatology; 2003: Elsevier. p. 137-45.
8. Martínez R. Salud y enfermedad del niño y del adolescente: Editorial El Manual Moderno; 2017.
9. Goldenberg RL. The management of preterm labor. Obstetrics & Gynecology 2002;100:1020-37.
10. Tucker JM, Goldenberg RL, Davis RO, Copper RL, Winkler CL, Hauth JC. Etiologies of preterm birth in an indigent population: is prevention a logical expectation? Obstetrics and gynecology 1991;77:343-7.
11. Nacimientos por área de ocurrencia y sexo, según grupos de edad de la madre, total nacional. 2010. (Accesado Consultado el 10 de septiembre 2011, Consultado el 10 de septiembre 2011, Disponible en: Estadísticas Vitales: , at http://www.dane.gov.co/daneweb_V09/index.php?option=com_content&view=article&id=1043&Itemid=119b.)

12. Guillen-Goldstein J, MacKenzie AP, Funai EF. Assessment of fetal lung maturity. UpToDate; 2015.
13. Castro MJDG, Freddy y colaboradores. . I Consenso Venezolano de maduración pulmonar fetal. : Editorial TIPS Imagen y Comunicación. Venezuela.; 2008.
14. Chander A, Fisher AB. Regulation of lung surfactant secretion. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology 1990;258:L241-L53.
15. Kalina M, Socher R. Internalization of pulmonary surfactant into lamellar bodies of cultured rat pulmonary type II cells. Journal of Histochemistry & Cytochemistry 1990;38:483-92.
16. Varner S, Sherman C, Lewis D, et al. Amniocentesis for fetal lung maturity: will it become obsolete? Reviews in Obstetrics and Gynecology 2013;6:126.
17. Ñáñez H RA, Bautista A, Angel E. . . Maduración Pulmonar Fetal. Texto de Obstetricia y Perinatología. Una contribución a la enseñanza del arte, ciencia y tecnología. Universidad Nacional de Colombia, Instituto Materno Infantil. 1ª. Edición.: Lito Camargo Limitada, Bogotá; 1999.
18. Wright JR, Clements JA. Metabolism and turnover of lung surfactant. The American review of respiratory disease 1987;136:426-44.
19. Gluck L, Kulovich MV, Borer RC, Jr., Brenner PH, Anderson GG, Spellacy WN. Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. American journal of obstetrics and gynecology 1971;109:440-5.
20. Perez-Gil J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: the role of proteins and lipid-protein interactions. Biochimica et biophysica acta 2008;1778:1676-95.
21. Verder H, Ebbesen F, Brandt J, et al. Lamellar body counts on gastric aspirates for prediction of respiratory distress syndrome. Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992) 2011;100:175-80.