
PREDICCIÓN PRENATAL DE LA MADURACIÓN PULMONAR FETAL POR DETERMINACIÓN DE FOSFOLÍPIDOS Y POR RECUENTO DE CUERPOS LAMELARES EN LÍQUIDO AMNIÓTICO

FETAL LUNG MATURITY ANTENATAL PREDICTION BY PHOSPHOLIPID CONCENTRATION AND BY LAMELLAR BODY COUNT IN AMNIOTIC FLUID

Ariel Iván Ruiz-Parra, MD, MSc*
Liliana Muñoz, Bact, MSc**
Ligia Ome, Bact**

RESUMEN

Introducción. La relación Lecitina/Esfingomielina en líquido amniótico es patrón oro para hacer una buena predicción prenatal de la madurez pulmonar fetal, de primordial importancia en la prevención del síndrome de dificultad respiratoria; sin embargo, se han desarrollado pruebas más rápidas, económicas y fácilmente disponibles. El recuento de cuerpos lamelares llena esos criterios. **Objetivos.** Evaluar el valor del fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol, fosfatidilserina y el recuento de cuerpos lamelares para el diagnóstico de la maduración pulmonar fetal, comparándolos con diferentes niveles de la relación Lecitina/Esfingo-

mielina. **Materiales y métodos.** Los fosfolípidos se determinaron por cromatografía unidimensional en capa delgada por el método Helena Fetal-Tek 200, la lecitina y la esfingomielina se midieron por densitometría y el recuento de cuerpos lamelares se hizo con el contador hematológico CELL-DYN 3200. Se determinaron las características operativas según tres criterios de la relación Lecitina/Esfingomielina. **Resultados.** Se analizaron 1234 muestras. El 99.5% de los líquidos con fosfatidilglicerol positivo tenían una relación Lecitina/Esfingomielina ≥ 2.0 pero el 70% de los líquidos negativos tenían la misma relación. El fosfatidilinositol tuvo una sensibilidad del 91.5% al 95.7% y una especificidad del 53% al 79.7% para detectar maduración pulmonar.

* Profesor Titular, Departamento de Obstetricia y Ginecología e Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. E-mail: airuizparra@gmail.com

** Bacterióloga, Instituto Materno-Infantil de Bogotá.

Un recuento de 10.500 cuerpos lamelares/ micro L tuvo sensibilidad del 85.08%, especificidad del 82.42%, "Razón de verosimilitud" o LR (+) de 4.83 y LR (-) de 0.18, para detectar relación Lecitina/ Esfingomielina ≥ 2.0 . Para detectar relación Lecitina/ Esfingomielina ≥ 2.5 , un recuento de 13.100 cuerpos lamelares /micro L tuvo sensibilidad de 82.5%, especificidad del 80.6%, LR (+) de 4.26 y LR (-) de 0.21. Para detectar relación de Lecitina/ Esfingomielina de ≥ 3.0 , un recuento de 17.000 cuerpos lamelares/micro L tiene sensibilidad del 81.22%, especificidad de 80.61. LR (+) de 4.18 y LR (-) de 0.23. **Conclusión.** La prueba más sensible para detectar madurez pulmonar fue el fosfatidilinositol y la más específica el fosfatidilglicerol. El recuento de cuerpos lamelares es una buena prueba de maduración pulmonar, pero se deben tener en cuenta sus características para tomar decisiones.

Palabras clave: Líquido amniótico, maduración pulmonar fetal, relación Lecitina/Esfingomielina, cuerpos lamelares, pruebas diagnósticas, curva ROC.

ABSTRACT

Introduction. Lecithin/Sphingomyelin ratio in amniotic fluid is a gold standard test to make accurate antenatal prediction of fetal lung maturity, of utmost importance in the prevention of neonatal respiratory distress syndrome; but other tests are quicker, cheaper and readily available. Lamellar body count fills these criteria. **Objectives.** To evaluate tests from amniotic fluid samples in fetal lung maturity prediction versus gold standard Lecithin/Sphingomyelin at different ratios; these are concentrations of phosphatidylglycerol, phosphatidylinositol, phosphatidylserine and lamellar body count. **Materials and methods.** Phospholipids were measured by unidimensional thin layer chro-

matography by the Helena Fetal-Tek 200 method, lecithin and sphingomyelin by densitometry and lamellar body count by CELL-DYN 3200 blood counter. Operative characteristics were determined by three criteria applied to lecithin/sphingomyelin ratio. **Results.** 1234 were analysed. 99.5% of amniotic fluid positive for phosphatidylglycerol had a lecithin/sphingomyelin ratio of ≥ 2.0 , but same ratio was found in 70% of negative fluids. To detect lung maturity, Phosphatidylinositol had a sensitivity of 91.5% to 95.7% and an specificity of 53% to 79.7%. A lamellar body count/micro L of 10.500 had a sensibility of 85.08%, specificity of 82.42%, "Likelihood ratio" or LR (+) of 4.83 y LR (-) of 0.18, to detect a lecithin/sphingomyelin ratio of ≥ 2.0 . To detect a lecithin/sphingomyelin ratio of ≥ 2.5 , a count of 13.100 lamellar bodies /micro L had a sensibility of 82.5%, specificity of 80.6%, LR (+) of 4.26 y LR (-) of 0.21. To detect a lecithin/sphingomyelin ratio of ≥ 3.0 , a count of 17.000 lamellar bodies/micro L had a sensibility of 81.22%, an specificity of 80.61. LR (+) of 4.18 and LR (-) of 0.23. **Conclusion.** To detect fetal lung maturity, most sensible test was quantification of phosphatidylinositol, being phosphatidylglycerol the more specific one. Lamellar body count is a good test to predict lung maturity, but in order to make decisions, it is advisable to consider its characteristics.

Key words: Amniotic fluid, fetal lung maturity, lecithin/sphingomyelin rate, lamellar bodies, diagnostic tests, ROC curve.

I. INTRODUCCIÓN

El parto antes del término de la gestación es uno de los problemas sanitarios de mayor impacto sobre la salud materno-perinatal, ya que es la principal causa de morbilidad y mortalidad perinatal. Para efectos de este trabajo, se define **Parto Pre término** como aquel que ocurre entre las 20 y las

37 semanas de gestación. El término comprende al **Parto Inmaduro**, el que se presenta entre las 20 y las 27 semanas + 6 días, y al **Parto prematuro**, aquel que ocurre entre las 28 y las 37 semanas de gestación.

En Estados Unidos ha ocurrido un aumento de la incidencia de parto pre término desde 9.4% en 1981 hasta 11.9% en el 2001 (1); mientras que, en Alemania se observó una reducción de la incidencia desde 7% en 1981 hasta 4% en 1989 (2). De acuerdo con el Departamento Nacional de Estadísticas (DANE) (3), entre enero y agosto de 2004, ocurrieron en Colombia 449.154 partos; durante ese periodo las tasas de parto pre término, inmaduro y prematuro fueron del 16.4%, 0.32% y 16.1%, respectivamente. En Colombia se observan grandes diferencias regionales: la tasa de parto pre término va desde 10.6% en el Departamento del Cauca hasta 23.8% en el Departamento de San Andrés. Según el DANE durante el periodo mencionado ocurrieron en Bogotá 74.065 partos, siendo las tasas de parto pre término, inmaduro y prematuro de 19.7%, 0.39% y 19.3%, respectivamente.

En el recién nacido (RN) la principal morbilidad de la prematuridad es la enfermedad de membrana hialina (EMH), causada por déficit del surfactante pulmonar. En consecuencia, el síndrome de dificultad respiratoria (SDR) y la prematuridad son las primeras causas de hospitalización en la unidades de cuidado intensivo neonatal (4).

El parto pretérmino ocurre en forma **espontánea**, asociado a patologías maternas, ovulares y fetales, o por **indicación médica**. Se estima que un 20 a 25% de los partos prematuros ocurren por indicación médica (5). La necesidad de inducción del parto o de practicar operación cesárea antes del término conlleva el riesgo de EMH del neonato, por

lo que en muchos casos se requieren pruebas de maduración pulmonar fetal antes de la intervención. Desde la década de 1970, el patrón de oro para el diagnóstico de maduración pulmonar fetal ha sido la determinación de la relación Lecitina/Esfingomielina (relación L/E) (6); no obstante, como ocurre con un buen número de patrones de oro para diagnóstico, la disponibilidad de la prueba es muy limitada incluso en medios con alta tecnología lo que ha estimulado la búsqueda de pruebas alternativas.

Una de las alternativas más recientes para el diagnóstico de la maduración pulmonar fetal es el recuento de cuerpos lamelares (CL) en el líquido amniótico (LA). Aunque el recuento de CL es una prueba más sencilla, es ampliamente disponible y tiene bajos costos en comparación con la determinación de la relación L/E, no se conocen bien sus características operativas y no ha sido evaluado sistemáticamente en nuestro medio. Los objetivos de este trabajo son: determinar las características operativas del recuento de CL para el diagnóstico de la maduración pulmonar fetal, establecer los puntos de corte adecuados para diferentes niveles del patrón de oro, investigar la validez de la prueba y estudiar el valor de la determinación de otros fosfolípidos en el LA.

II. JUSTIFICACIÓN

La relación L/E, prueba considerada como patrón de oro para determinar la madurez pulmonar fetal antenatal, ofrece dificultades técnicas, requiere equipamiento especial, entrenamiento específico y estandarización, consume tiempo, es relativamente costosa y su disponibilidad, aún en centros perinatales de alto riesgo, es muy limitada.

Las razones anteriores han estimulado la búsqueda de pruebas diagnósticas alternativas más sencillas, baratas y ampliamente disponibles para

la determinación de la madurez pulmonar fetal. Las pruebas rápidas ofrecen la ventaja adicional de permitir la toma de decisiones oportunas en obstetricia y perinatología. El recuento de CL parece ser una de las pruebas diagnósticas que cumple con esas características.

A pesar de que el recuento de CL es considerado por algunos autores como la primera elección para el estudio de la madurez pulmonar fetal (7,8), su uso en nuestro medio es muy limitado y son muy escasas las publicaciones sobre el tema. Algunas limitantes para la investigación pueden estar relacionadas precisamente con la carencia del patrón de oro para realizar estudios de concordancia y de validez diagnóstica.

Los contadores automatizados de hematología se encuentran disponibles prácticamente en todos los laboratorios clínicos básicos. No obstante, se requiere evaluar las características operativas de la prueba en nuestro medio, en comparación con la relación L/E y establecer puntos críticos de corte, así como razones de verosimilitud (LR, por sus iniciales en inglés: *likelihood ratio*) para ofrecer una herramienta útil que permita tomar decisiones clínicas apropiadas.

En nuestro medio, no solo la magnitud del parto pretérmino espontáneo, sino la del parto pretérmino por indicación médica, son muy importantes³. De hecho, el síndrome de preeclampsia-eclampsia, una de las principales causas de parto pretérmino médicamente indicado -con el objeto de preservar la vida de la madre y del feto-, constituye un serio problema de salud pública en Colombia y en muchos países en vías de desarrollo (7, 8, 9). No obstante, al tomar la decisión de interrumpir una gestación antes de término, se debe hacer un balance entre el riesgo de obtener un recién nacido prematuro y el beneficio de mitigar los efectos maternos de una enfermedad progresiva y potencialmente letal. Uno

de los elementos que más influye en el análisis de ese balance riesgo-beneficio es precisamente el estado de maduración pulmonar fetal, por lo que se requiere contar con pruebas sencillas, rápidas y ampliamente disponibles en nuestro medio, pero también válidas y confiables que permitan las decisiones apropiadas. Esto es además urgente en el Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, sitio de remisión de pacientes toxémicas y de alto riesgo perinatal.

III. OBJETIVOS

Objetivos generales

Determinar el valor que tiene la investigación de fosfolípidos del surfactante diferentes a la lecitina y a la esfingomielina para el diagnóstico de la maduración pulmonar fetal.

Determinar el valor del recuento de CL en LA para el diagnóstico de la madurez pulmonar fetal.

Objetivos específicos

Determinar las características operativas del recuento de CL en LA (sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud) para el diagnóstico de madurez pulmonar fetal.

Determinar los puntos de corte del recuento de CL en LA para el diagnóstico de la madurez fetal determinada por diversos criterios de la relación L/E.

Determinar la correlación entre las concentraciones de CL en LA y el valor de la relación L/E.

Determinar las características operativas de la presencia de diversos fosfolípidos del surfactante para el diagnóstico de madurez pulmonar fetal y establecer las razones de verosimilitud que

orienten a los clínicos para la interpretación de los resultados.

Investigar la utilidad de una prueba más accesible en nuestro medio y establecer razones de verosimilitud que orienten a los clínicos para la interpretación de los resultados en forma aislada o en conjunto con otras pruebas de madurez pulmonar fetal.

Explorar las consecuencias (costos) de falsos negativos y falsos positivos de los fosfolípidos individuales en la determinación de la madurez pulmonar fetal.

Investigar la factibilidad de predecir el valor de la relación L/E a partir del recuento de CL.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Muestras de líquido amniótico

Las muestras de LA se obtuvieron por amniocentesis transparieto-abdominal, tanto en el Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad Nacional de Colombia (en el Instituto Materno Infantil, IMI) como en las Instituciones remitentes. En todas las instituciones la amniocentesis se practicó bajo guía de ultrasonido, siguiendo estrictas medidas de asepsia y antisepsia y obteniendo previamente un consentimiento informado por escrito relacionado con los beneficios y los riesgos de la punción. En el IMI las muestras se dividieron en dos alícuotas, una para la determinación de los fosfolípidos del surfactante y otra para el recuento de CL; la primera se procesó en el Laboratorio de Biología de la Procreación y la segunda en el Laboratorio Central.

Se excluyeron del análisis las muestras contaminadas con meconio y con sangre por su interferencia con la determinación de la relación L/E.

B. Determinación de la relación lecitina/esfingomielina

La determinación de la relación L/E y de la presencia de los fosfolípidos del surfactante se llevó a cabo por cromatografía unidimensional en capa delgada siguiendo el método Helena Fetal-Tek 200 (Beaumont, Texas) (10), que se basa en los principios informados por Gluck y colaboradores (6). La placa de cromatografía del método utilizado -fase sólida- es una placa de capa fina acanalada de sílica gel que tiene dos áreas superficiales diferentes: una banda de 3 cm de ancho pre-adsorbente localizada en el extremo inferior y la capa analítica de sílica gel que constituye el resto de la placa.

El Helena Fetal-Tek 200 es un método semi-cuantitativo que permite determinar no solo la relación L/E, sino la presencia de otros fosfolípidos que son importantes para la actividad surfactante, tales como el FG y el FI, así como de fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina. La interpretación clínica de la presencia de éstos fosfolípidos no se ha aclarado, lo cual constituye uno de los objetivos del presente estudio.

Para la extracción de los fosfolípidos se utilizaron 3 a 4 mL de LA que se centrifugaron a 1.000 RPM durante 3 minutos y el sobrenadante se separó para el procedimiento. Los fosfolípidos se extrajeron a partir de 2 mL del sobrenadante con una mezcla de 2 mL de metanol y 2 mL de cloroformo que se agregaron en dicho orden, mezclando durante 10 a 15 segundos después de agregar el metanol y durante 20 segundos después de agregar el cloroformo. Posteriormente se centrifugó la mezcla a 3.000 RPM durante 10 minutos hasta obtener separación completa de las tres fases: metanol en la parte superior, una capa central proteínica y una capa inferior de cloroformo. Posteriormente se obtuvo 1 mL de la capa de cloroformo (capa inferior del tubo colocado a 45

grados de inclinación) que se colocó en el plato de micropreparación. Las muestras se dejaron evaporar para secado durante aproximadamente 30 minutos, posteriormente se les agregaron 40 μ L de cloroformo en el plato de micropreparación, se giraron durante 10 segundos para disolver los fosfolípidos extraídos y se aplicaron sobre una línea horizontal, marcada previamente, a través de los canales en la parte inferior de la placa de cromatografía de capa fina. Se aplicaron también los tres controles que trae el método Fetal-Tek: maduro, "borderline" e inmaduro y 40 μ L del marcador Fetal-Tek 200 de comparación. Dicho marcador contiene: 0.03 mg/mL de esfingomielina (de cerebro bovino), 0.32 mg/mL de lecitina (de yema de huevo), 0.08 mg/mL de FI (de soya), 0.07 mg/mL de fosfatidiletanolamina (de yema de huevo) y 0.15 mg/mL de FG (de yema de huevo). Posteriormente se dejó secar la placa durante 4 minutos y se colocó en la cámara reveladora dejando el área pre-adsorbente hacia la parte inferior.

Los lípidos se separaron en la cámara de revelado usando un sistema solvente -fase móvil- que contiene (para dos placas): 30 mL de cloroformo, 9 mL de metanol, 25 mL de 2-propanol, 25 mL de trietilamina y 7 mL de agua des-ionizada. El sistema solvente se preparó agregando en el orden mencionado los componentes y agitando permanentemente. Se permitió la migración de los fosfolípidos durante 70 minutos al cabo de los cuales se secó la placa. Los fosfolípidos se revelaron utilizando un reactivo diluido de acetato cúprico-ácido fosfórico que contenía 3% (peso/volumen) de acetato cúprico en 8% (volumen/volumen) de ácido fosfórico, el cual se agregó por aspersión a la placa hasta que se encontrara completamente húmeda. La placa se colocó a 180 grados centígrados durante 7 a 10 minutos. Posteriormente se identificaron los fosfolípidos por comparación con el marcador aplicado previamente en el primer canal de la placa.

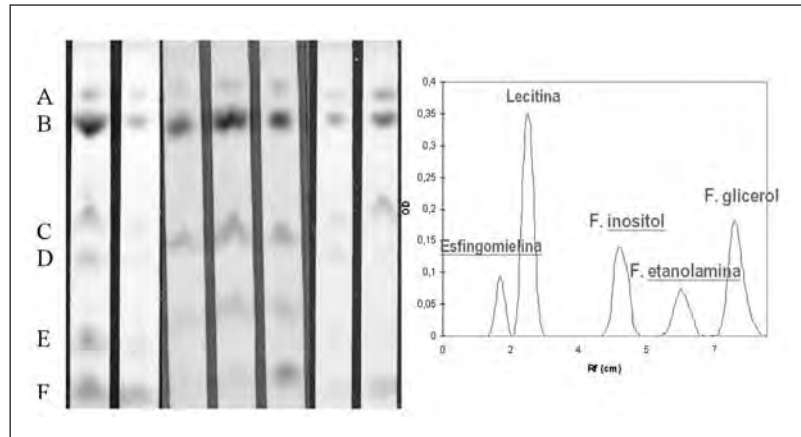
Las bandas de lecitina y esfingomielina se cuantificaron por densitometría con un filtro de 525 nm; la densitometría se hizo en el Laboratorio de Biología del Instituto Nacional de Cancerología, por amable cortesía de dicho laboratorio que facilitó el uso del equipo. Se expresó la intensidad de las dos bandas como la razón L/E. Los demás fosfolípidos se expresaron como presentes (positivos) o ausentes (negativos). La figura 1 ilustra en el lado izquierdo cromatografías unidireccionales en capa fina con los distintos fosfolípidos del surfactante y en el lado derecho un patrón de densitometría de muestras obtenidas en nuestro laboratorio.

C. Determinación de la concentración de cuerpos lamelares

El recuento de CL se hizo en forma independiente y con cegamiento respecto a los resultados de la relación L/E. Para el recuento se tomó una alícuota de igual volumen que para la cromatografía en capa delgada. El LA se centrifugó inmediatamente en un tubo estéril a 3.000 RPM durante 10 minutos. El sobrenadante se decantó en un tubo estéril y se utilizaron 3 mL del mismo para la lectura de los CL. La muestra centrifugada se lavó con una solución electrolítica balanceada (Diluent/Sheath). Posteriormente se colocó en un mezclador hematológico durante dos minutos; se aspiraron 120 μ L (modo abierto). El conteo de CL se llevó a cabo en un contador de células hematológicas CELL-DYN 3200 (Abbott, Illinois, USA) a través del canal de plaquetas. Esta canal mide el número y tamaño de partículas en un rango de 2 a 20 fL de volumen. El reactivo utilizado evita la interferencia entre los glóbulos rojos y las plaquetas, asegurando el conteo exacto por dispersión de luz LASER. La concentración de CL se informó como número/ μ L.

Figura 1

Cromatografía unidireccional en capa delgada que muestra los fosfolípidos del surfactante de líquidos amnióticos, revelados con acetato cúprico-ácido fosfórico.



Carril 1: patrón. Carriles 2 a 7 fosfolípidos del surfactante de líquidos amnióticos. A la derecha el patrón de la densitometría, en el mismo orden en que aparecen los lípidos en la cromatografía desde la parte superior a la inferior. A = Esfingomielina, B = Lecitina, C = Fosfatidilinositol, D = Fosfatidiletanolamina, E = Fosfatidilglicerol y F = otros lípidos.

D. Análisis estadístico

Tamaño de la muestra, una reflexión *post hoc*

En este estudio se analizaron las muestras obtenidas en forma consecutiva durante un periodo de diez años, cuyos resultados se registraron en forma prospectiva en la base de datos diseñada para la investigación. Sin embargo, de acuerdo con Dawson-Saunders y Trapp (11) "aunque es preferible considerar el asunto correspondiente al tamaño de la muestra antes de realizar el estudio, considerar el tema *post hoc* es mejor que no hacerlo en absoluto".

Para los estudios de pruebas diagnósticas no hay un consenso en la literatura sobre el tamaño de muestra adecuado. Se ha postulado que no debe haber un número inferior a 30 sujetos sin la enfermedad y 30 sujetos que tengan claramente la condición de interés (12) (en nuestro estudio madurez pulmonar). También se ha informado como

tamaño adecuado una cifra global de al menos 200 individuos estudiados. Una recomendación adicional se basa en el número mínimo de sujetos en las casillas de la tabla tetracórica; de acuerdo con ésta aproximación, un tamaño de muestra debe ser suficiente cuando haya mínimo 10 pacientes en cada casilla marginal (12,13).

Entre otras recomendaciones para el cálculo del tamaño de la muestra en estudios de pruebas diagnósticas se encuentran:

- 1) Estimar el tamaño de la muestra con base en un intervalo de confianza deseado de la razón de verosimilitudes (LR) (14).
- 2) Calcular el tamaño desde el punto de vista del planteamiento de hipótesis; esta aproximación tendría dos categorías: a) evaluar la hipótesis de diferencia de las características operativas (sensibilidad, especificidad y valores predictivos) entre la prueba en estudio y el patrón de refe-

rencia y b) evaluar una hipótesis de concordancia entre las dos pruebas (12).

- 3) Estimación con base en una razón de verosimilitud positiva (LR +) deseada (15).

Todas estas estimaciones arrojan resultados diferentes. Otra propuesta es la de Duffau (15) quien propone la siguiente fórmula:

$$N = \frac{N'}{4} (1 + (1 + 2(r + 1) / N' r | p2 - p1 |)^{0.5})^2$$

$$N' = [(Z_{\alpha} \{(r + 1)pq\}^{0.5} - Z_{\beta}(rp1q1 + p2q2)^{0.5})^2 / r(p2 - p1)^2]$$

$$\text{Tamaño total} = N + Nr$$

Donde:

N = uno de los tamaños muestrales

Nr = el otro tamaño muestral

r = la fracción que representa la muestra mas pequeña respecto a la mayor. Como lo es-
perable es una prevalencia inferior al 50%,
la muestra que corresponde a verdaderos
enfermos según el estándar ideal será = Nr y
la de verdaderos no afectados N

^ "elevado a"

p1 es la sensibilidad de la prueba (a / (a + c))

q1 = 1 - p1

p2 = proporción de falsos positivos (b / (b + d)) =
1 - especificidad

q2 = 1 - p2

Z_α para 0.05 = 1.645 (hipótesis a una cola)

Z_β para 0.20 = -0.842 (hipótesis a una cola)

p = (p1 + rp2)/(r + 1)

q = 1 - p

Para detectar un LR+ = ≥ 2.5, con un error alfa de 0.05, un poder del estudio del 90%, estimando una prevalencia de la enfermedad de 0.25 en la muestra y una proporción de falsos positivos del 22% se requiere (usando esta fórmula) un tamaño total de 111 casos (N = 83, Nr = 28) (15). El número de muestras analizado en el presente trabajo es

muy superior a esta estimación, pero es preferible para tener un número apropiado de casos en las casillas de las tablas tetracóricas, particularmente con diversos niveles del patrón de oro.

2. Análisis

Para este trabajo se hizo una base de datos en Excel y para el análisis estadístico se utilizó el programa STATA versión 8.0 (Texas, USA). Se empleó la prueba de Shapiro-Wilks para determinar la distribución de las variables continuas. Los datos con distribución normal se describen con medias y desviaciones estándar y los datos con distribución no normal con medianas, y percentiles 25 y 75. En ambos casos se informan también los rangos. Las variables categóricas se describen con distribuciones de frecuencias absolutas, y relativas. Se presentan tablas de contingencia para asociación de variables. Para determinar las características operativas de las pruebas se determinaron la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo de una prueba positiva y valor predictivo negativo de una prueba negativa, razones de verosimilitud positiva y negativa (LR+ y LR-) y los correspondientes intervalos de confianza del 95%. Para comparación de las determinaciones individuales de fosfolípidos se calcularon los costos totales de las pruebas.

Para determinar los puntos de corte del recuento de CL apropiados para diversos niveles de la relación L/E se hicieron curvas ROC y se determinaron las áreas bajo la curva con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Se presentan además las razones de verosimilitud positiva y negativa para diversos puntos de corte del recuento de CL en relación con tres niveles de la relación L/E. Se determinó el índice de correlación entre el recuento de CL y la relación L/E y entre el recuento de CL y la edad gestacional. Finalmente, se hizo un modelo de regresión lineal simple para predicción del valor de la relación L/E a partir del recuento de CL.

E. Aspectos éticos

Esta investigación se considera sin riesgo para las pacientes ya que el recuento de CL en LA para los fines del estudio, solo se llevó a cabo cuando el volumen de LA enviado para la determinación de la relación L/E, fue suficiente para separar una pequeña alícuota con destino al laboratorio central.

Todas las amniocentesis fueron practicadas para obtener determinaciones de los fosfolípidos cuando estaba indicada dentro de los estándares del manejo de las pacientes; en ningún momento se practicaron amniocentesis que no estuvieran médicamente indicadas, para los propósitos de ésta investigación.

Los médicos tratantes, tanto en el Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad Nacional, como en los demás sitios de remisión de muestras de LA, contaron con la información adicional de

la concentración de CL, dado que la literatura médica ha informado de su uso para la determinación de la madurez pulmonar fetal, desde la década de 1990 (16). Sin embargo, no se adelantó ninguna interpretación por nuestra parte, ya que para ello se requerían los resultados de la presente investigación.

Los resultados se presentan en forma global y se guarda la confidencialidad de las pacientes.

V. RESULTADOS

A. Muestras analizadas. Durante los 10 años comprendidos entre el 8 de mayo de 1996 y el 7 de mayo de 2006, se estudiaron un total de 1.234 muestras de LA para determinación de la relación L/E. La mayor parte de las muestras se procesaron durante los primeros cuatro años. La tabla 1 y la figura 2 muestran el número de muestras analizadas en cada periodo anual desde el inicio del estudio.

Tabla 1. Distribución de frecuencias del número de pruebas por periodos anuales.

PERIODOS ANUALES	FECHAS	No.	%
I	8-V-96 a 7-V-97	153	12.4
II	8-V-97 a 7-V-98	312	25.3
III	8-V-98 a 7-V-99	218	17.7
IV	8-V-99 a 7-V-00	208	16.9
V	8-V-00 a 7-V-01	87	7.0
VI	8-V-01 a 7-V-02	72	5.8
VII	8-V-02 a 7-V-03	67	5.4
VIII	8-V-03 a 7-V-04	25	2.0
IX	8-V-04 a 7-V-05	42	3.4
X	8-V-05 a 7-V-06	50	4.0
TOTAL		1.234	100.0

Se excluyeron del análisis 89 muestras de líquido amniótico (7.2%), quedando un total de 1.145 muestras. Sesenta y cinco muestras se excluyeron por tener aspecto macroscópico sanguinolento, 14 por tener glóbulos rojos en el sedimento y 10 por presencia de meconio.

B. Procedencia de las muestras de líquido amniótico

Se tiene información de las instituciones de procedencia de 919 de las 1.145 muestras de LA. La mayoría de las amniocentesis fueron practicadas en el IMI, la Clínica San Rafael y la Clínica San Pedro Claver del Instituto de los Seguros Sociales (tabla 2 y figura 3).

Figura 2
Número de muestras de líquidos amnióticos analizadas por periodo.

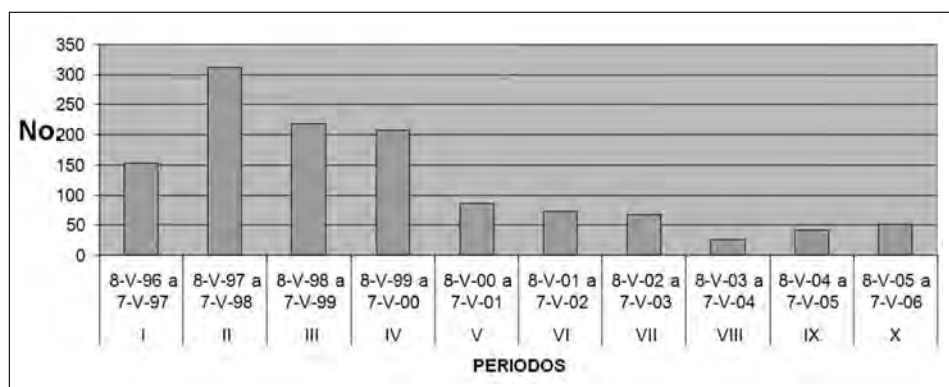
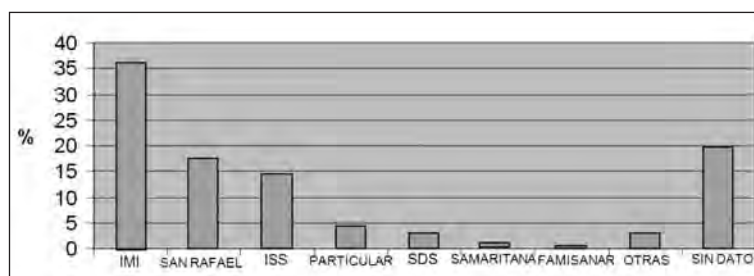


Tabla 2. Instituciones de procedencia de las muestras de líquido amniótico.

INSTITUCIÓN	No.	%
IMI	417	36.4
SAN RAFAEL	201	17.6
ISS	165	14.4
PARTICULAR	50	4.4
SDS	35	3.0
SAMARITANA	9	0.8
FAMISANAR	7	0.6
OTRAS	35	3.0
SIN DATO	226	19.7
TOTAL	1.145	100

IMI: Instituto Materno Infantil. ISS: Clínica San Pedro Claver del Instituto de los Seguros Sociales. SDS: Secretaría Distrital de Salud.

Figura 3
Instituciones de procedencia de las Muestras de líquido amniótico.



IMI: Instituto Materno Infantil.
ISS: Clínica San Pedro Claver del Instituto de los Seguros Sociales.
SDS: Secretaría Distrital de Salud.

C. Determinaciones de fosfolípidos

Se practicaron 1.141 determinaciones de FG de las cuales 480 (42.1%) fueron negativas y 661 (57.9%) positivas; se determinó el FI en 1.135 muestras de las cuales 205 (18.1%) fueron negativas y 930 (81.9%) positivas; la presencia de fosfatidiletanolamina se investigó en 1.131 muestras de las cuales 370 (32.7%) resultaron negativas y 761 (67.3%) resultaron positivas. El número de determinaciones de los fosfolípidos no coincide debido a que en ocasiones no es posible identificar la presencia o ausencia de uno o más de ellos en la cromatografía por razones técnicas.

El recuento de CL se llevó a cabo en 662 muestras de LA. La distribución de los datos del recuento de CL no fue normal ($p = 0.00000$); la mediana del recuento de CL fue 22.950 CL/ μ L, el percentil 25 fue 11.000 CL/ μ L, el percentil 75 fue 42.000 CL/ μ L y el rango fue 0 a 547.000 CL/ μ L.

La determinación de la relación L/E se hizo en 1.133 casos. La distribución de los datos de la relación L/E no fue normal ($p = 0.00000$). La mediana de la relación L/E fue 4.55, el percentil 25 fue 2.8, el percentil 75 fue 6.91 y el rango fue 0.42 a 18.4.

Como era de esperarse, a medida que se eleva el punto de corte de la relación L/E que indica madurez pulmonar fetal, se redujo la proporción de fetos considerados maduros. Así, cuando el punto de corte de la relación L/E fue ≥ 2.0 se encontraron 148 (13.1%) inmaduros y 985 (86.9%) maduros; cuando el punto de corte para la relación L/E fue ≥ 2.5 , se encontraron 243 (21.5%) inmaduros y 890 (78.5%) maduros y cuando el punto de corte fue

una relación L/E ≥ 3.0 , se encontraron 315 (27.8%) inmaduros y 818 (72.2%) maduros.

D. Características operativas de fosfolípidos individuales del surfactante para la determinación de la maduración pulmonar fetal

En este trabajo se siguen los lineamientos de la literatura sobre pruebas de maduración pulmonar fetal respecto a los conceptos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos. En este sentido la sensibilidad se define como la capacidad de la prueba que se estudia para detectar la maduración pulmonar fetal de acuerdo con el patrón de oro (la relación L/E). Esto es, la sensibilidad es la proporción de fetos con madurez pulmonar (con relación L/E madura) que tienen resultados positivos del fosfolípido en estudio (presencia del fosfolípido). La especificidad es la proporción de fetos inmaduros (con relación L/E inmadura) que tienen resultados negativos del fosfolípido en estudio (ausencia del fosfolípido). Valor predictivo negativo es la probabilidad de que un resultado negativo del fosfolípido se asocie con inmadurez pulmonar y valor predictivo positivo es la probabilidad de que un resultado positivo del fosfolípido asocie con verdadera madurez pulmonar.

Aunque estas definiciones no coinciden con los conceptos clásicos de sensibilidad y especificidad utilizados en epidemiología clínica, según los cuales el desenlace positivo (o patológico) que se desea detectar sería la inmadurez pulmonar fetal y un resultado positivo de la prueba en estudio sería un resultado anormal de la prueba (12, 16-18), todas las publicaciones sobre pruebas de maduración pulmonar fetal hacen referencia a los

conceptos expresados en el párrafo anterior, con los cuales están familiarizados los clínicos.

Dado que se han definido en la literatura varios valores de corte de la relación L/E para indicar madurez pulmonar fetal -en parte debido a que se requieren relaciones L/E altas para confirmar madurez pulmonar fetal en gestantes diabéticas y en otros casos- se determinaron las características operativas de los diferentes fosfolípidos, en relación con los tres valores de corte de la relación L/E mas frecuentemente utilizados en la práctica clínica: 2.0, 2.5 y 3.0.

1. Presencia de fosfatidilglicerol

a. Cuando la relación L/E ≥ 2.0 indica maduración pulmonar

Se encontró una asociación altamente significativa entre la presencia de FG y la madurez pulmonar (p = 0.000). El 99.5% de los líquidos que tenían presente el FG tenían una relación L/E ≥ 2.0; sin embargo, el 69.3% de los líquidos con ausencia de FG también tenían una relación L/E ≥ 2.0 (tabla 3). La tabla 4 muestra las características operativas de la prueba de FG en éstas circunstancias. En ésta y en las tablas sucesivas, prevalencia hace referencia a madurez pulmonar fetal en la muestra estudiada.

Tabla 3. Distribución del resultado de fosfatidilglicerol según la relación L/E con punto de corte ≥ 2.0.

FOSFATIDILGLICEROL	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	656	3	659
(-) AUSENCIA	327	145	472
TOTAL	983	148	1.131

Tabla 4. Características operativas de la prueba de fosfatidilglicerol para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E> 2.0.

CARACTERÍSTICAS	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	66,7	63,8 - 69,7
ESPECIFICIDAD	97,9	95,7 - 100
VPP	99,6	99,0 - 100
VPN	30,7	26,6 - 34,9
LR(+)	32.9	31.3 - 34.6
LR(-)	0.34	0.31 - 0.37
PREVALENCIA	86.9	84.9 - 88.9

b. Cuando la relación L/E ≥ 2.5 indica maduración pulmonar

Se encontró una alta asociación estadística entre la presencia de FG y la maduración pulmonar

fetal (p = 0.000). Las tablas 5 y 6 muestran la distribución de los resultados de FG y las características operativas de la prueba, cuando una relación L/E ≥ 2.5 indica madurez pulmonar fetal.

Tabla 5. Distribución del resultado de fosfatidilglicerol según la relación L/E con punto de corte ≥ 2.5 .

FOSFATIDILGLICEROL	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	647	12	659
(-) AUSENCIA	241	231	472
TOTAL	888	243	1.131

Tabla 6. Características operativas de la prueba de fosfatidilglicerol para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E ≥ 2.5 .

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	72,9	69,9 - 75,8
ESPECIFICIDAD	95,1	92,3 - 99,8
VPP	98,2	97,2 - 99,2
VPN	48,9	44,4 - 53,5
LR(+)	14,8	14,0 - 15,5
LR(-)	0,3	0,2 - 0,3
PREVALENCIA	78,5	76,1 - 80,9

c. Cuando la relación L/E ≥ 3.0 indica maduración pulmonar

En éste caso el 96% de los LA donde se detectó la presencia de fosfatidilglicerol tenían relación L/E

≥ 3.0 ; la asociación es estadísticamente significativa ($p = 0.000$). La tablas 7 y 8 muestran la distribución de frecuencias y las características operativas de la prueba de FG, cuando una relación L/E ≥ 3.0 se considera indicativa de madurez pulmonar fetal.

Tabla 7. Distribución del resultado de fosfatidilglicerol según la relación L/E con punto de corte ≥ 3.0 .

FOSFATIDILGLICEROL	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	633	26	659
(-) AUSENCIA	183	289	472
TOTAL	816	315	1.131

Tabla 8. Características operativas de la prueba de fosfatidilglicerol para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E ≥ 3.0 .

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	77,6	74,7 - 80,4
ESPECIFICIDAD	91,8	88,7 - 94,8
VPP	96,1	94,6 - 97,5
VPN	61,2	56,8 - 65,6
LR(+)	9,4	8,9 - 9,9
LR(-)	0,2	0,2 - 0,3
PREVALENCIA	72,2	69,5 - 74,8

2. Presencia de fosfatidilinositol

a. Cuando la relación $L/E \geq 2.0$ indica maduración pulmonar

También existe una asociación altamente significativa entre la presencia de FI y la maduración

pulmonar fetal cuando el punto de corte para la relación L/E es ≥ 2.0 ($p = 0.000$). En las tablas 9 y 10 se muestra la distribución de la presencia de FI usan un punto de corte de 2.0 para los resultados de la relación L/E .

Tabla 9. Distribución del resultado de fosfatidilinositol según la relación L/E con punto de corte ≥ 2.0 .

FOSFATIDILINOSITOL	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	900	30	930
(-) AUSENCIA	84	118	202
TOTAL	984	148	1.132

Tabla 10. Características operativas de la prueba de fosfatidilinositol para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación $L/E \geq 2.0$.

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	91,5	89,7 - 93,2
ESPECIFICIDAD	79,7	73,3 - 86,2
VPP	96,8	95,6 - 97,9
VPN	58,4	51,6 - 65,2
LR(+)	4,5	4,2 - 4,9
LR(-)	0,1	0,09 - 0,13
PREVALENCIA	86,9	84,9 - 88,9

b. Cuando la relación $L/E \geq 2.5$ indica maduración pulmonar

También se encontró una alta sensibilidad de la prueba de FI para la detección de relación L/E

≥ 2.5 . Las tablas 11 y 12 muestran la distribución y las características operativas de la prueba de FI en función de una relación L/E con punto de corte en 2.5.

Tabla 11. Distribución del resultado de fosfatidilinositol según la relación L/E con punto de corte ≥ 2.5 .

FOSFATIDILINOSITOL	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	838	92	930
(-) AUSENCIA	51	151	202
TOTAL	889	243	1.132

Tabla 12. Características operativas de la prueba de fosfatidilinositol para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E ≥ 2.5

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	94,3	92,7 - 95,8
ESPECIFICIDAD	62,1	56,0 - 68,2
VPP	90,1	88,2 - 92,0
VPN	74,8	68,8 - 80,7
LR(+)	2,5	2,3 - 2,8
LR(-)	0,09	0,07 - 0,12
PREVALENCIA	78,5	76,1 - 80,9

c. Cuando la relación L/E ≥ 3.0 indica maduración pulmonar

Aquí se obtuvo la máxima sensibilidad (95,7%) y la menor especificidad (53%) de la prueba de FI. Las tablas 13 y 14 ilustran estos resultados.

Tabla 13. Distribución del resultado de fosfatidilinositol según la relación L/E con punto de corte ≥ 3.0 .

FOSFATIDILINOSITOL	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	782	148	930
(-) AUSENCIA	35	167	202
TOTAL	817	315	1.132

Tabla 14. Características operativas de la prueba de fosfatidilinositol para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E ≥ 3.0 .

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	95,7	94,3 - 97,1
ESPECIFICIDAD	53,0	47,5 - 58,5
VPP	84,1	81,7 - 86,4
VPN	82,7	77,5 - 87,9
LR(+)	2,0	1,8 - 2,3
LR(-)	0,08	0,06 - 0,11
PREVALENCIA	72,2	69,6 - 74,8

3. Presencia de fosfatidiletanolamina

a. Cuando la relación L/E ≥ 2.0 indica maduración pulmonar

Aunque, como en los casos anteriores existe una asociación altamente significativa ($p =$

0.000) entre la presencia de fosfatidiletanolamina y la madurez pulmonar fetal de acuerdo con la relación L/E, su sensibilidad fue intermedia en comparación con las pruebas de FG y FI (tablas 15 y 16).

Tabla 15. Distribución del resultado de fosfatidiletanolamina según la relación L/E con punto de corte ≥ 2.0 .

FOSFATIDILETANOLAMINA	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	744	17	761
(-) AUSENCIA	236	131	367
TOTAL	980	148	1.128

Tabla 16. Características operativas de la prueba de fosfatidiletanolamina para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E ≥ 2.0 .

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	75,9	73,2 - 78,6
ESPECIFICIDAD	88,5	83,4 - 93,7
VPP	97,8	96,7 - 98,8
VPN	35,7	30,8 - 40,6
LR(+)	6,6	6,2 - 7,1
LR(-)	0,27	0,24 - 0,31
PREVALENCIA	86,9	84,9 - 88,9

b. Cuando la relación L/E ≥ 2.5 indica maduración pulmonar

sensibilidad y una especificidad de alrededor del 80%. Las tablas 17 y 18 ilustran las características operativas de la prueba en estas circunstancias.

Cuando el valor de corte de la relación L/E es ≥ 2.5 , la prueba de fosfatidiletanolamina tiene una

Tabla 17. Distribución del resultado de fosfatidiletanolamina según la relación L/E con punto de corte ≥ 2.5 .

FOSFATIDILETANOLAMINA	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	709	52	761
(-) AUSENCIA	176	191	367
TOTAL	885	243	1.128

Tabla 18. Características operativas de la prueba de fosfatidiletanolamina para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación L/E ≥ 2.5 .

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	80,1	77,5 - 82,7
ESPECIFICIDAD	78,6	73,4 - 83,8
VPP	93,2	91,4 - 94,9
VPN	52,0	46,9 - 57,2
LR(+)	3,7	3,5 - 4,0
LR(-)	0,25	0,22 - 0,29
PREVALENCIA	78,5	76,1 - 80,9

c. Cuando la relación $L/E \geq 3.0$ indica maduración pulmonar

Al comparar los intervalos de confianza no hay diferencias muy significativas en el comportamiento

de la prueba de fosfatidiletanolamina cuando el criterio de la relación L/E cambia de ≥ 2.5 a ≥ 3.0 . Las tablas 19 y 29 ilustran las características operativas de la prueba de fosfatidiletanolamina cuando el valor de corte de la relación L/E es ≥ 3.0 .

Tabla 19. Distribución del resultado de fosfatidiletanolamina según la relación L/E con punto de corte ≥ 3.0 .

FOSFATIDILETANOLAMINA	RELACIÓN L/E		TOTAL
	MADURA	INMADURA	
(+) PRESENCIA	676	85	761
(-) AUSENCIA	137	230	367
TOTAL	813	315	1.128

Tabla 20. Características operativas de la prueba de fosfatidiletanolamina para detectar el estado de maduración pulmonar fetal usando como punto de corte una relación $L/E \geq 3.0$.

CARACTERÍSTICA	VALOR PUNTUAL (%)	IC 95% (%)
SENSIBILIDAD	83,2	80,6 - 85,7
ESPECIFICIDAD	73,0	68,1 - 77,9
VPP	88,8	86,6 - 91,1
VPN	62,7	57,7 - 67,6
LR(+)	3,1	2,9 - 3,3
LR(-)	0,23	0,20 - 0,27
PREVALENCIA	72,2	69,5 - 74,7

4. Comparación entre las tres pruebas individuales de fosfolípidos

La necesidad de certeza diagnóstica depende de la penalidad que se tiene por cometer una equivocación respecto a la verdadera condición del paciente (16). Por ello, una forma de comparar el valor de las determinaciones de los tres fosfolípidos es tener en cuenta las consecuencias negativas o costos de no tratar un falso negativo (C_{FN}) y los costos de tratar un falso positivo (C_{FP}). Un falso

negativo de la prueba consiste en nuestro caso en tener un resultado compatible con inmadurez pulmonar fetal cuando, en realidad, el feto está maduro; mientras que, un falso positivo es tener un resultado compatible con madurez cuando, en realidad, el feto está inmaduro. Ante un falso negativo, el médico podría continuar la gestación (asumiendo inmadurez) lo que llevaría a prolongación innecesaria de la gestación con los riesgos de muerte fetal intrauterina y complicaciones maternas. En el caso de un falso positivo, el médico podría terminar una

gestación (asumiendo madurez) obteniendo un recién nacido inmaduro que requiere UCI y tiene riesgo de morbilidad.

El número de falsos negativos depende de: 1) la frecuencia con que se presenta la situación = P (prevalencia), 2) la proporción de falsos negativos (el complemento de la sensibilidad de la prueba = 1 - S), y 3) el total de personas investigadas, N. Por otro lado, el número de falsos positivos depende de: 1) la frecuencia de personas que no tienen la situación (el complemento de la prevalencia = 1 - P), 2) la proporción de falsos positivos (el complemento de la especificidad = 1 - E) y 3) el total de personas investigadas, N, de acuerdo con las siguientes ecuaciones (16, 17).

Número de falsos negativos = N x (1 - S) x P
Número de falsos positivos = N x (1 - E) x (1 - P)

La valoración de los costos totales de una prueba, C_T, se obtiene de la siguiente forma:

C_T = C_{FN} x Número de falsos negativos + C_{FP} x
Número de falsos positivos
o
C_T = C_{FN} x N x (1 - S) x P + C_{FP} x N x (1 - E) x
(1 - P)

Desde el punto de vista clínico son preferibles las pruebas que tengan menores costos (consecuencias negativas). Si se asume que los costos de los falsos positivos son cinco (5) veces superiores a los de los falsos negativos, las tres pruebas de fosfolípidos se comparan reemplazando los valores en la ecuación, teniendo en consideración los tres valores de corte para madurez pulmonar fetal del patrón de oro. Por ejemplo, si se considera madurez pulmonar fetal cuando la relación L/E es ≥ 2.0 los costos totales de FG, FI y FE serían los siguientes:

C_T FG = 1 x 1.131 x (1 - 0,667) x 0,869 + 5 x
1.131 x (1 - 0.979) x (1 - 0.869)
C_T FI = 1 x 1.132 x (1 - 0.915) x 0.869 + 5 x
1.132 x (1 - 0.797) x (1 - 0.869)
C_T FE = 1 x 1.128 x (1 - 0.759) x 0.869 + 5 x
1.128 x (1 - 0.885) x (1 - 0.869)

Los costos totales para los tres fosfolípidos individuales, según cada valor de corte para madurez pulmonar fetal de la relación L/E y calculados por el método previamente descrito se muestran en la tabla 21.

Tabla 21. Costos totales para fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina según el criterio de la relación L/E.

FOSFOLÍPIDOS	CRITERIO DE MADUREZ PULMONAR FETAL DE LA RELACIÓN L/E		
	≥ 2.0	≥ 2.5	≥ 3.0
FG	346,49	300,18	311,82
FI	234,14	511,86	774,68
FE	321,21	435,71	560,16

E. Características operativas de diversas combinaciones de fosfolípidos del surfactante para la determinación de la maduración pulmonar fetal

Debido al comportamiento de los diversos fosfolípidos a medida que avanza la edad gestacional, con aparición, meseta y declinación de algunos de ellos (19, 20, 21), los resultados de las pruebas de maduración pulmonar informan diversas combinaciones de positividad y negatividad de los tres

fosfolípidos. Si no se tiene una idea clara de lo que significan dichas combinaciones o no se cuenta con información sobre el comportamiento semanal de los diversos fosfolípidos, el clínico podría tener dificultades para interpretar los resultados. Por ello se determinaron las razones de verosimilitud para dichos resultados, La tabla 22 resume las razones de verosimilitud para las diversas combinaciones de dos fosfolípidos y para los tres fosfolípidos, teniendo en cuenta los tres valores de corte del patrón de oro (relación L/E).

Tabla 22. Resumen de las razones de verosimilitud para diversos resultados de los fosfolípidos, de acuerdo con los valores de corte de la relación L/E.

FOSFOLÍPIDOS	POSITIVOS	RELACIÓN L/E		
		≥ 2.0	≥ 2.5	≥ 3.0
FG + FI	NINGUNO	0,09	0,08	0,06
	UNO	1,5	0,73	0,54
	LOS DOS	33	14,4	9,5
FG + FE	NINGUNO	0,3	0,18	0,14
	UNO	2,22	1,06	0,86
	LOS DOS	30	16,8	10,14
FI + FE	NINGUNO	0,08	0,07	0,04
	UNO	1,46	0,82	0,61
	LOS DOS	8,22	4,33	3,37
FG + FI + FE	NINGUNO	0,08	0,07	0,04
	UNO	1,08	0,52	0,37
	LOS DOS	2,71	1,2	1
	LOS TRES	30	16,5	10

* FG: Fosfatidilglicerol; FI: fosfatidilinositol; FE: fosfatidiletanolamina; L/E: relación lecitina/esfinogomielina.

F. Cuerpos lamelares para la determinación de la maduración pulmonar fetal

Para identificar los puntos de corte del recuento de CL con las mejores características operativas para determinar si existe maduración pulmonar fetal se hicieron tres curvas ROC correspondiendo a cada uno de los tres criterios de relación L/E que se han definido para indicar madurez pulmonar fetal.

1. Cuando la relación L/E ≥ 2.0 indica maduración pulmonar fetal

La tabla 23 resume los puntos de corte para el recuento de CL que tienen los valores clínicamente mas importantes de sensibilidad, especificidad, clasificados correctamente (exactitud de la prueba), LR (+) y LR (-).

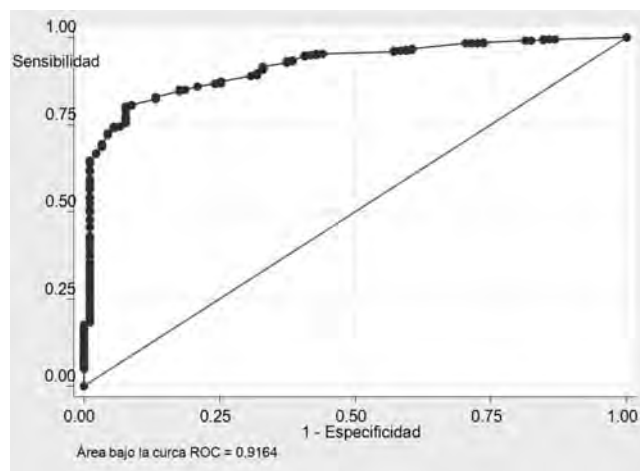
Tabla 23. Sensibilidad, especificidad, exactitud y razones de verosimilitud para diversos puntos de corte de CL, cuando la relación L/E ≥ 2.0 indica madurez pulmonar fetal.

Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	LR+	LR- corte CL
(≥ 8200)	87.39%	74.73%	85.63%	3.4576	0.1688
(≥ 8400)	87.21%	74.73%	85.47%	3.4505	0.1711
(≥ 8600)	87.03%	74.73%	85.32%	3.4435	0.1735
(≥ 8700)	86.86%	74.73%	85.17%	3.4365	0.1759
(≥ 8800)	86.86%	75.82%	85.32%	3.5927	0.1733
(≥ 9000)	86.68%	75.82%	85.17%	3.5853	0.1757
(≥ 10000)	85.97%	79.12%	85.02%	4.1174	0.1773
(≥ 10400)	85.08%	81.32%	84.56%	4.5543	0.1835
(≥ 10500)	85.08%	82.42%	84.71%	4.8389	0.1810
(≥ 10600)	84.90%	82.42%	84.56%	4.8288	0.1832
(≥ 11000)	84.55%	82.42%	84.25%	4.8086	0.1875
(≥ 11300)	82.95%	86.81%	83.49%	6.2903	0.1964
(≥ 11700)	82.77%	86.81%	83.33%	6.2768	0.1985
(≥ 12000)	82.42%	86.81%	83.03%	6.2499	0.2026
(≥ 12100)	80.64%	91.21%	82.11%	9.1727	0.2123
(≥ 12200)	80.46%	91.21%	81.96%	9.1525	0.2142
(≥ 12300)	80.28%	92.31%	81.96%	10.4369	0.2136
(≥ 12400)	80.11%	92.31%	81.80%	10.4139	0.2155

De acuerdo con esto, un punto de corte del recuento de CL ≥ 10.500 CL/ μ L ofrece una sensibilidad del 85,08%, una especificidad del 82,42%, un LR (+) de 4,83 y un LR (-) de 0,18, cuando el criterio de madurez pulmonar es una relación L/E ≥ 2.0 . Un

84,71% de los líquidos amnióticos son clasificados correctamente con éste punto de corte. La figura 4 muestra la curva ROC correspondiente; el área bajo la curva fue de 0,91 (IC 95%: 0,89 - 0,94).

Figura 4. Curva ROC del número de cl para detección de maduración pulmonar fetal cuando el criterio del patrón de oro para maduración pulmonar es L/E ≥ 2.0



2. Cuando la relación L/E ≥ 2.5 indica maduración pulmonar fetal

En la tabla 24 se muestran los puntos de corte para el recuento de CL que tienen los mejores

valores de sensibilidad, especificidad, exactitud y razones de verosimilitud para diversos puntos de corte de CL, cuando la relación L/E que indica madurez pulmonar es ≥ 2.5 .

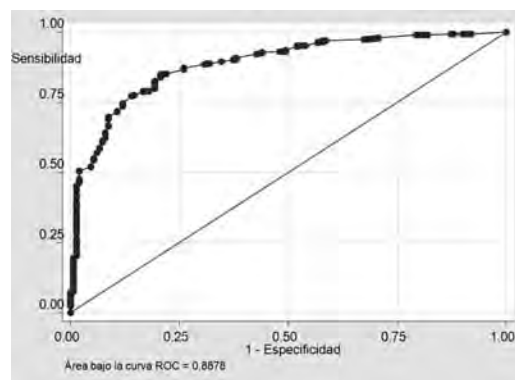
Tabla 24. Sensibilidad, especificidad, exactitud y razones de verosimilitud para diversos puntos de corte de CL, cuando la relación L/E ≥ 2.5 indica madurez pulmonar fetal.

Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	LR+	LR-
(≥ 11000)	88.49%	69.33%	84.10%	2.8856	0.1660
(≥ 11300)	87.30%	74.00%	84.25%	3.3578	0.1716
(≥ 11700)	87.10%	74.00%	84.10%	3.3501	0.1743
(≥ 12000)	86.71%	74.00%	83.79%	3.3349	0.1796
(≥ 12100)	85.12%	78.00%	83.49%	3.8690	0.1908
(≥ 12200)	85.12%	78.67%	83.64%	3.9900	0.1892
(≥ 12300)	84.92%	79.33%	83.64%	4.1091	0.1901
(≥ 12400)	84.72%	79.33%	83.49%	4.0995	0.1926
(≥ 12600)	84.52%	79.33%	83.33%	4.0899	0.1951
(≥ 12700)	84.33%	79.33%	83.18%	4.0803	0.1976
(≥ 12800)	84.13%	79.33%	83.03%	4.0707	0.2001
(≥ 13000)	83.93%	79.33%	82.87%	4.0611	0.2026
(≥ 13100)	82.54%	80.67%	82.11%	4.2693	0.2165
(≥ 13300)	82.34%	80.67%	81.96%	4.2590	0.2189
(≥ 13600)	82.14%	80.67%	81.80%	4.2488	0.2214
(≥ 13800)	81.94%	80.67%	81.65%	4.2385	0.2238
(≥ 14000)	81.55%	80.67%	81.35%	4.2180	0.2287
(≥ 14500)	80.36%	80.67%	80.43%	4.1564	0.2435

Estos datos muestran que con un punto de corte en 13.100 CL/ μ L y considerando madurez pulmonar fetal una relación L/E ≥ 2.5 obtenemos una sensibilidad del 82,54%, una especificidad

del 80,67%, una exactitud del 82,11%, un LR (+) de 4,26 y un LR (-) de 0,21. La figura 5 muestra la curva ROC correspondiente. El área bajo esta curva fue 0,89 (IC 95%: 0,86 - 0,92).

Figura 5. Curva ROC del número de CL para detección de maduración pulmonar fetal cuando el criterio del patrón de oro para maduración pulmonar es L/E ≥ 2.5



3. Cuando la relación L/E ≥ 3.0 indica maduración pulmonar fetal

En la tabla 25 se muestran los puntos de corte para el recuento de CL que tienen los mejores

valores de sensibilidad, especificidad, clasificados correctamente (exactitud de la prueba), LR (+) y LR (-), cuando la relación L/E que indica madurez pulmonar es ≥ 3.0.

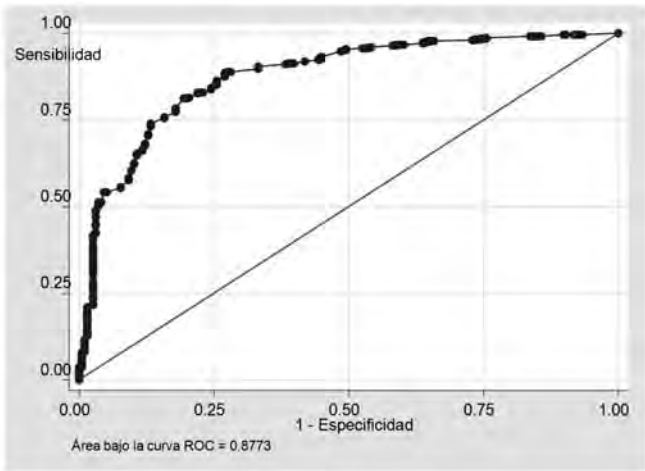
Tabla 25. Sensibilidad, especificidad, exactitud y razones de verosimilitud para diversos puntos de corte de CL, cuando la relación l/e ≥ 3.0 indica madurez pulmonar fetal.

Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud	LR+	LR- corte CL
(≥ 16400)	81.44%	79.59%	80.89%	3.9906	0.2332
(≥ 16800)	81.22%	80.10%	80.89%	4.0820	0.2344
(≥ 17000)	81.22%	80.61%	81.04%	4.1894	0.2329
(≥ 17300)	78.38%	82.14%	79.51%	4.3895	0.2631
(≥ 17600)	78.17%	82.14%	79.36%	4.3773	0.2658
(≥ 17700)	77.73%	82.14%	79.05%	4.3528	0.2711
(≥ 17800)	77.51%	82.14%	78.90%	4.3406	0.2738
(≥ 18000)	77.29%	82.14%	78.75%	4.3284	0.2764
(≥ 18600)	75.76%	84.18%	78.29%	4.7903	0.2879
(≥ 19000)	75.55%	84.18%	78.13%	4.7764	0.2905
(≥ 19400)	74.02%	86.73%	77.83%	5.5798	0.2996

En éste caso con un punto de corte de 17.000 CL/μL se obtiene una sensibilidad del 81,22%, una especificidad del 80,61%, el 81,04% de los líquidos son correctamente clasificados, el LR (+) es de 4,18

y el LR (-) de 0,23. La figura 6 muestra la curva ROC correspondiente; en este caso el área bajo la curva fue de 0,87 (IC 95%: 0,84 - 0,91).

Figura 6. Curva ROC del número de CL para detección de maduración pulmonar fetal cuando el criterio del patrón de oro para maduración pulmonar es L/E ≥ 3.0



La tabla 26 resume las características operativas para cada uno de los puntos de corte seleccionados para permitir comparaciones y ofrecer una herramienta de consulta para el médico tratante.

nados para permitir comparaciones y ofrecer una herramienta de consulta para el médico tratante.

Tabla 26. Sensibilidad, especificidad, exactitud diagnóstica, LR (+) y LR (-) para puntos de corte de los CL, según los valores de relación L/E.

RELACIÓN L/E MADURA	PUNTOS DE CORTE CL/ μ L	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	EXACTITUD DIAGNÓSTICA	LR (+)	LR (-)
2.0	10.500	85,08	82,42	84,71	4,83	0,18
2.5	13.100	82,54	80,67	82,11	4,24	0,21
3.0	17.000	81,22	80,61	81,04	4,18	0,23

La tabla 27 resume las áreas bajo las tres curvas ROC y los intervalos de confianza correspondientes a cada uno de los valores de la relación L/E considerados indicativos de maduración

pulmonar fetal. Teniendo en cuenta los intervalos de confianza no hay diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 27. Áreas bajo la curva con sus intervalos de confianza del 95% para los tres criterios de la relación L/E.

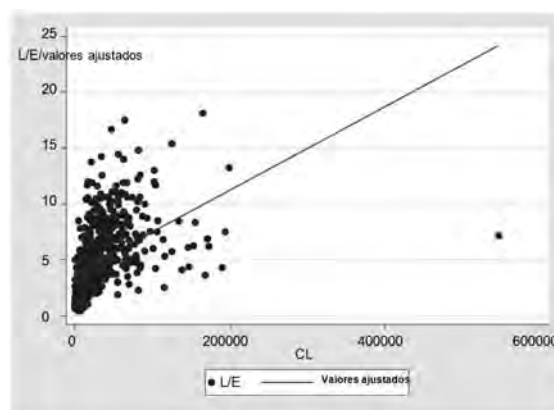
RELACIÓN L/E MADURA	ÁREA BAJO LA CURVA ROC	INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95%
2.0	0,91	0,89 – 0,94
2.5	0,89	0,86 – 0,92
3.0	0,87	0,84 – 0,91

G. Correlación entre recuento de cuerpos lamelares y relación L/E

recuento de CL por μ L y relación L/E, teniendo en cuenta todos los valores de CL. En este caso el índice de correlación fue de 0,45.

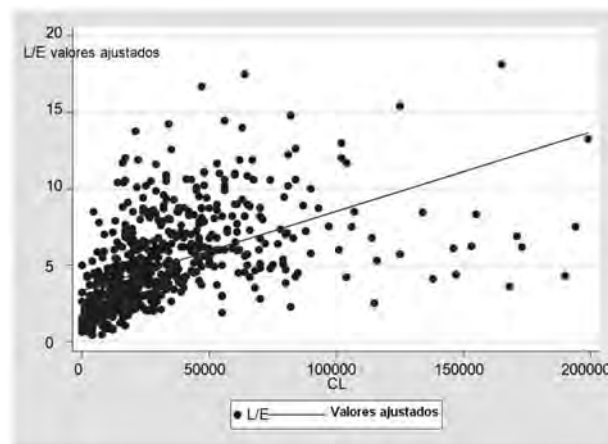
En la figura 7 se muestra la gráfica de dispersión, con la predicción lineal calculada, para

Figura 7. Gráfica de dispersión del recuento de CL vs. Relación L/E teniendo en cuenta todos los valores de CL.



Cuando se eliminó un valor extremo del recuento de CL de 547.000 el índice de correlación aumentó a 0,53 (figura 8).

Figura 8. Gráfica de dispersión del recuento de CL vs. Relación L/E excluyendo un valor extremo de CL.

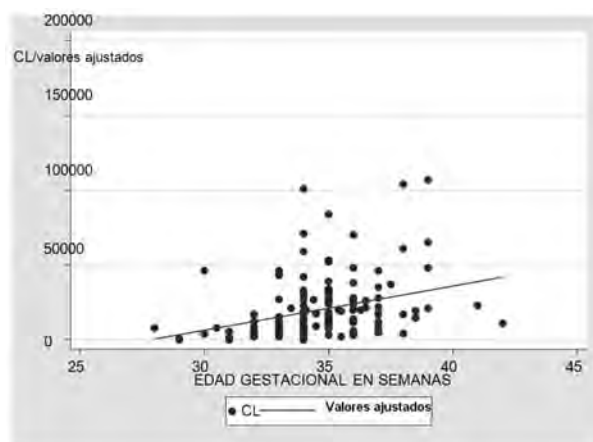


H. Correlación entre recuento de cuerpos lamelares y la edad gestacional

Se cuenta con información confiable de la edad gestacional por amenorrea, ultrasonido o ambos indicadores en 148 casos provenientes del IMI. La distribución de los datos de edad gestacional fue normal ($p = 0.20$); el promedio de edad gestacional fue de 34,9 semanas (DE: 2,29 semanas) y el rango

fue 28 a 42 semanas. El índice de correlación entre el recuento de CL y la edad gestacional en semanas cumplidas fue de 0,33. No se contaba con el dato de la edad gestacional en el caso del LA con recuento de CL de 547.000 por lo que la exclusión de éste valor no modificaba los resultados. La figura 9 muestra la gráfica de dispersión del recuento de CL por μL versus la edad gestacional en semanas cumplidas.

Figura 9. Gráfica de dispersión del recuento de CL vs. Edad gestacional excluyendo un valor extremo de CL.



I. Predicción del valor de la relación L/E a partir del recuento de cuerpos lamelares

Se construyó un modelo para la predicción de la relación L/E a partir del recuento de CL, exclu-

yendo el valor extremo mencionado anteriormente. La tabla 28 es la tabla de ANOVA para la regresión lineal simple y la tabla 29 muestra los coeficientes de la regresión.

Tabla 28. Tabla de ANOVA para la regresión lineal simple. Variable dependiente: relación L/E; variable independiente: recuento de CL.

	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F(1,651)	P
Modelo	1636,262	1	1636.262	248,54	0,0000
Residual	4285,865	651	6,584		
Total	5922,127	652			

Tabla 29. Coeficientes de la regresión lineal simple. Variable dependiente: relación L/E; variable independiente: recuento de CL.

	COEFICIENTE	ERROR ESTÁNDAR	t	p	IC 95%
CL	0,0000519	0,0000032	15,77	0,000	0,0000455-0,0000584
Constante	3,328568	0,1428388	23,30	0,000	3,048088-3,609048

El R² del modelo fue de 0,28. De acuerdo con lo anterior el modelo de predicción quedaría:

$$\text{Relación L/E} = 3,328568 + 0,0000519 \times \text{CL} + \epsilon$$

Donde CL es el recuento de cuerpos lamelares por μL y ϵ es el error.

Las figuras 10 y 11 muestran la predicción calculada de la relación L/E (variable dependiente)

a partir del recuento de CL (variable independiente), con sus correspondientes intervalos de confianza del 95%. En la figura 12 se muestra la predicción a partir de todo el rango posible de CL; sin embargo, dado que en el área clínica el rango inferior es el que mas interesa, se elaboró también la predicción hasta un recuento de CL menor de 30.000/ μL , la cual se muestra en la figura 11.

Figura 10. Predicción calculada de la relación L/E a partir del recuento de CL, usando todo el rango de valores de CL.

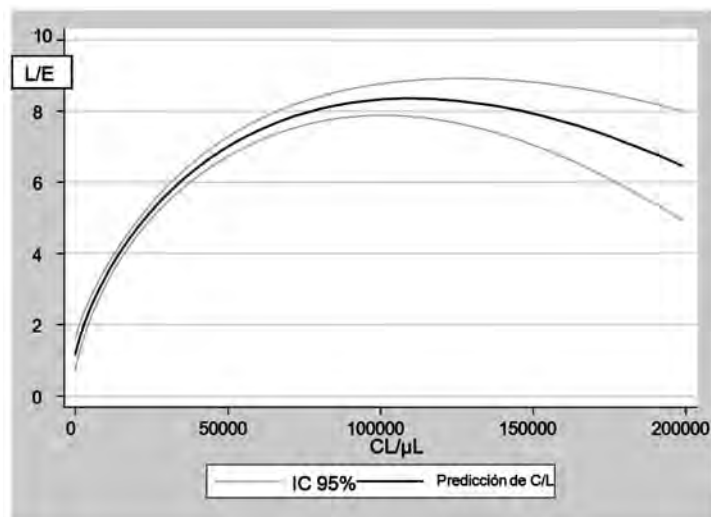
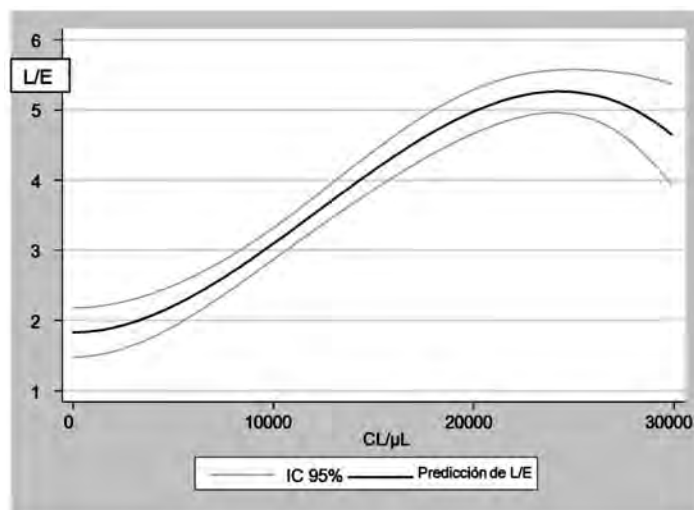


Figura 11. Predicción calculada de la relación L/E a partir del recuento de CL, usando el rango de CL desde 0 hasta 30.000/μL.



Dentro del diagnóstico de la regresión (17, 18) el análisis de valores ajustados versus residuales (error) mostró un número importante de valores alejados de la línea central de cero. También se encontró en la distribución de los residuales que los valores se alejan de la diagonal. Estos hechos junto con los resultados de la prueba de Shapiro

Wilk para los residuales rechaza la distribución normal.

VI. DISCUSIÓN

Las razones por las cuales se buscan pruebas diagnósticas alternativas a la relación L/E incluyen:

1) baja disponibilidad en nuestro medio, aún en los hospitales de alto riesgo obstétrico; 2) difícil estandarización de la técnica con la consecuente baja reproducibilidad; 3) consumo de gran cantidad de tiempo, en circunstancias en las que se deben tomar conductas inmediatas (amenaza de parto pretérmino, ruptura de membranas antes del término, restricción del crecimiento intrauterino, diabetes, hipertensión, entre otras y 4) menor confiabilidad cuando hay contaminación del LA con meconio o con sangre⁴⁹, cuando la relación L/E es limítrofe con respecto a la madurez pulmonar (resultados entre 1.5 y 1.9) y cuando se estudian gestaciones de alto riesgo como las complicadas con diabetes (2,22,23,24),

Por otro lado, la determinación de la relación L/E requiere cuantificación por densitometría de estos fosfolípidos. De hecho, para el presente estudio, la densitometría debió realizarse en el Laboratorio de Biología del Instituto Nacional de Cancerología, por no disponerse del equipo en nuestro Departamento. Mientras que, para determinar la presencia o ausencia de FG, FI y fosfatidiletanolamina solo se requiere la comparación visual de la cromatografía con el patrón de migración o usar espectrofotometría del LA, y para el recuento de CL se requiere un contador hematológico automatizado. Los equipos para estos dos últimos procedimientos se encuentran disponibles en la mayoría de los laboratorios clínicos.

En la literatura se han definido varios valores de corte de la relación L/E (el patrón de oro) para indicar madurez pulmonar fetal, siendo mas altos para los casos de diabetes gestacional (21). En este sentido el clínico debe disponer de los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de las pruebas individuales o combinadas, en relación con los diferentes valores de corte de la relación L/E. Por esta razón es necesario analizar

el comportamiento de las características operativas de las pruebas de maduración pulmonar respecto a los valores de corte de la relación L/E más frecuentemente utilizados en la práctica: 2.0, 2.5 y 3.0.

Tradicionalmente la presencia de FG ha sido interpretada como indicativa de madurez pulmonar fetal (19, 25). De hecho, en el presente trabajo el 99.5% de los líquidos con FG positivo tenían una relación L/E ≥ 2.0 . Sin embargo, casi el 70% de los líquidos con FG negativo también tenían una relación L/E ≥ 2.0 . Estos datos ilustran muy bien por qué la significación estadística de la asociación entre FG positivo y relación L/E madura, ofrece una información limitada, en comparación con la que brindan las características operativas de una prueba. Nuestros datos muestran que la presencia de FG resultó ser una prueba poco sensible pero altamente específica de maduración pulmonar fetal, independientemente del punto de corte del patrón de oro, y que sus LR (+) y (-) le confieren gran utilidad para el proceso diagnóstico.

A medida que se elevó el valor de corte del patrón de oro (relación L/E) para indicar madurez pulmonar fetal, se observó aumento de la sensibilidad (desde 66,7% hasta 77,6%) y disminución de la especificidad (desde 97,9% hasta 91,8%) de la prueba de FG. Esta situación es recíproca de lo que ocurre cuando se estudian, contra un patrón de oro que tiene criterios constantes, las características operativas de una prueba cuantitativa a la que se va aumentando el punto de corte; en éste caso, a medida que aumenta el punto de corte de la prueba disminuye la sensibilidad y aumenta la especificidad de la misma (26, 27).

Aunque en la literatura el FI es considerado mucho menos útil que el FG, en este estudio la presencia de FI mostró una mejor sensibilidad (entre el 91,5% y el 95,7%) para la detección de

la maduración pulmonar fetal, a expensas de una menor especificidad (entre un 53% y un 79,7%), como se espera de las relaciones que existen entre sensibilidad y especificidad (26, 27, 28). Las características operativas de la prueba de fosfatidiletanolamina mostraron resultados intermedios de sensibilidad en relación con las pruebas de FG y FI, pero mejor especificidad que la prueba de FI.

El uso de las pruebas diagnósticas está determinado en parte por las necesidades del clínico, quien desea pruebas altamente sensibles en algunas circunstancias y en otras desea pruebas altamente específicas, ya que los requerimientos de una certeza diagnóstica dependen de la pena que se paga por equivocarse respecto a la condición real del sujeto (29, 30).

Entonces la preferencia por una prueba diagnóstica depende de las consecuencias que ocurren cuando se hace o deja de hacerse un tratamiento oportunamente con base en sus resultados. Al respecto debe tenerse en cuenta que un resultado negativo de una prueba altamente sensible descarta el diagnóstico, mientras que un resultado positivo de una prueba altamente específica apoya el diagnóstico (26, 31, 32, 33). Los resultados del presente estudio muestran que la prueba más sensible fue la determinación de FI y la prueba más específica fue la determinación del FG. Dadas las particularidades de las definiciones de sensibilidad y especificidad en estudios de maduración pulmonar, lo anterior significa: 1) que la ausencia de FI en el LA está en contra de la existencia de madurez pulmonar, lo cual es un hallazgo del presente estudio y 2) que la presencia de FG en el LA apoya el diagnóstico de madurez pulmonar, lo que concuerda con lo informado en la literatura (19,21,34).

Cuando se analizan los costos totales o consecuencias de falsos negativos y falsos positivos de cada fosfolípido individual y, asumiendo que los

costos de los falsos positivos son cinco veces superiores a los de los falsos negativos se encuentra que la determinación de FG no fue la prueba preferible cuando el criterio de madurez pulmonar fetal es una relación $L/E \geq 2.0$. Para este valor de corte la prueba preferible resultó ser la determinación de FI. Mientras que la determinación de FG resultó ser preferible cuando se emplearon los demás criterios de maduración pulmonar fetal (relación $L/E \geq 2.5$ y relación $L/E \geq 3.0$).

Aunque fisiológicamente hay fosfolípidos que aumentan, otros mantienen meseta e incluso otros disminuyen al aumentar la edad gestacional (21), un hallazgo interesante del estudio es que, en todas las combinaciones de dos o en los tres fosfolípidos e independientemente del valor de corte de la relación L/E , la proporción de LA maduros aumentó progresivamente a medida que se tenían más fosfolípidos positivos (desde ninguno hasta los tres). Sin embargo, la combinación FG y FI brinda más información que cualquiera otra combinación de dos y la misma que conocer el resultado de los tres fosfolípidos diferentes a la lecitina y la esfingomielina.

El análisis de los posibles puntos de corte del recuento de CL para construir la curva ROC muestra que un valor ≥ 10.500 CL/ μ L ofrece una sensibilidad del 85,08%, una especificidad del 82,42%, un LR (+) de 4,83 y un LR (-) de 0,18, cuando el criterio de madurez pulmonar es una relación $L/E \geq 2.0$. Un 84,71% de los LA son clasificados correctamente con este punto de corte de CL. El área bajo la curva ROC fue de 0,91 (IC 95%: 0,89 - 0,94). En este caso la proporción de falsos positivos llega a cero (especificidad del 100%) cuando el punto de corte se establece en 56.000 CL/ μ L.

Por otro lado, cuando se considera madurez pulmonar fetal la presencia de una relación $L/E \geq 2.5$, la curva ROC muestra que con un punto de

corte en 13.100 CL/μL, obtenemos una sensibilidad del 82,5%, una especificidad del 80,6%, una exactitud diagnóstica del 82,1%, un LR (+) de 4,26 y un LR (-) de 0,21. En estas circunstancias se alcanza una especificidad del 100% cuando el punto de corte se establece en 83.000 CL/μL. El área bajo la curva fue 0,89 (IC 95%: 0,86 - 0,92), discretamente menor que la que se encuentra cuando el criterio de madurez pulmonar fetal es una relación L/E $\geq$ 2.0.

Finalmente, cuando la presencia de una relación L/E $\geq$ 3.0 se considera madurez pulmonar fetal, un punto de corte de 17.000 CL/μL ofrece una sensibilidad del 81,22%, una especificidad del 80,61%, una exactitud diagnóstica del 81,04%, un LR (+) de 4,18 y un LR (-) de 0,23. En éste caso el área bajo la curva ROC fue de 0,87 (IC 95%: 0,84 - 0,90). Aquí la proporción de falsos positivos fue cero cuando el punto de corte se fijó en 116.000 CL/μL.

Los puntos de corte que se eligieron en este estudio constituyen una orientación para otras instituciones, ya que, debido a las particularidades de prevalencia, a las diferencias observadas en la concordancia en el recuento de CL entre los equipos automatizados (35), así como a diferencias en las técnicas de centrifugación (36,37), entre otras, hay diferentes puntos de corte informados en la literatura y es ideal establecer dichos puntos para cada institución (24). Así por ejemplo, en nuestro medio, Cifuentes informó un valor predictivo positivo del 94% y un valor predictivo negativo del 82% con un punto de corte de 16.000 CL/μL, en un estudio en el que el desenlace fue EMH (38). Mientras que, Lee y colaboradores informaron una sensibilidad del 100% y una especificidad del 80% cuando el punto de corte se estableció en 50.000 CL/μL (39). Dalance y colaboradores informaron que con recuentos superiores a 30.000 CL/μL se obtuvo una predicción del 100% de madurez pul-

monar fetal, con un recuento menor a 10.000 CL/μL se predijo en un 100% inmadurez pulmonar y que 10.000 y 30.000 CL/μL se encuentra la zona gris para el diagnóstico (41). Mientras que Ashwood y colaboradores propusieron un punto de corte de 50.000 CL/μL en líquidos centrifugados a 400g durante dos minutos (37).

En un estudio en el cual se comparó en una muestra de 111 casos el recuento de CL contra la prueba de Clements como patrón de oro se encontró, con base en el análisis de la curva ROC, que el mejor punto de corte era 25.000 CL/μL. Con este punto de corte las autoras obtuvieron una sensibilidad de 91.5%, una especificidad del 88.4%, un valor predictivo positivo del 90%, un valor predictivo negativo del 90.2%, un LR (+) de 7.9 y un LR (-) de 0.09, para una prevalencia del 51.3% de pruebas de Clements positivas (24). Aunque el patrón de oro que usamos en nuestro estudio es el aceptado en la literatura, el último estudio comparó el recuento de CL con varias pruebas accesibles en la práctica clínica.

Las razones de verosimilitud (LR) positivas y negativas describen las propiedades discriminativas de los resultados positivos y negativos, respectivamente, de las pruebas diagnósticas (40). Los LR informan cuántas veces más (o menos) es la probabilidad de que los resultados de una prueba ocurran en sujetos con la condición de interés en comparación con quienes no tienen dicha condición (27,41). Una ventaja de los LR es que se pueden aplicar directamente para establecer la probabilidad de una condición en un individuo (40). Se considera que un LR (+) mayor de 10 y un LR (-) menor de 0,1 suministra evidencia diagnóstica convincente, mientras que un LR (+) mayor de 5 y un LR (-) menor de 0,2 ofrece fuerte evidencia diagnóstica (42). En este estudio se encontraron LR (+) $>$ 10 para la presencia de FG (respecto a L/E $\geq$ 2.0 y $\geq$ 2.5); presencia de FG y FI (respecto

a $L/E \geq 2.0$ y ≥ 2.5); presencia de FG y fosfatidiletanolamina (para todas las L/E) y presencia de los tres fosfolípidos (para $L/E \geq 2.0$ y ≥ 2.5). Se encontraron $LR (-) < 0.1$ para la ausencia de FI (respecto a $L/E \geq 2.5$ y ≥ 3.0); ausencia conjunta de FG y FI, FI y fosfatidiletanolamina y de los tres fosfolípidos (para todas las L/E).

Con respecto a los CL, se encontraron $LR (+) > 10$ cuando el recuento fue ≥ 12.300 CL/ μ L para $L/E \geq 2.0$; ≥ 26.200 CL/ μ L para $L/E \geq 2.5$, y ≥ 28.300 CL/ μ L para $L/E \geq 3.0$. Los $LR (-) < 0.1$ se encontraron cuando el recuento de CL fue ≤ 5.000 CL/ μ L para $L/E \geq 2.0$ y $L/E \geq 2.5$, y ≤ 7.800 CL/ μ L para $L/E \geq 3.0$.

Como era de esperarse, a medida que aumenta el nivel de la relación L/E que indica madurez pulmonar fetal, el punto de corte mas apropiado para el recuento de CL aumentó (desde 10.500/ μ L hasta 17.000/ μ L). La mayor área bajo la curva se encontró cuando una relación $L/E \geq 2.0$ se consideró criterio de madurez pulmonar; sin embargo, no hay diferencias estadísticamente significativas entre las curvas ROC.

Dado que el área **bajo** la curva es el acumulado de aciertos o exactitud global de la prueba (verdaderos positivos y verdaderos negativos) y que el área **sobre** la curva es el acumulado de errores (falsos positivos y falsos negativos) (12, 27,29, 43). Los resultados en conjunto muestran que el recuento de CL es una prueba válida para la determinación de la madurez pulmonar fetal independientemente del valor crítico que se tenga en cuenta para la relación L/E . Por lo tanto, el presente trabajo concuerda con la literatura respecto al valor del recuento de CL como prueba de maduración pulmonar fetal, como prueba individual o como parte de un conjunto de pruebas diagnósticas (21, 24, 37, 44).

En el anexo 5 se encuentra el nomograma de Fagan (45) para calcular la probabilidad post-prueba a partir de la probabilidad pre-prueba y de los LR. La probabilidad pre-prueba de la madurez pulmonar fetal se puede calcular o presumir a partir de la información de la edad gestacional por amenorrea, de la biometría fetal por ultrasonido, de la historia clínica, de la prevalencia de prematuros y de la prevalencia de EMH y los LR se suministran en los anexos 1, 2 y 3 obtenidos en el presente trabajo. También puede obtenerse la probabilidad post-prueba con base en el teorema de Bayes (26, 27, 43,46).

Odds pre-prueba = Probabilidad pre-prueba / (1 - Probabilidad pre-prueba)

Odds pre-prueba X LR = Odds post-prueba
Probabilidad post-prueba = Odds post-prueba / (1 + Odds post-prueba)

En el presente estudio se encontró una relación directa entre el recuento de CL y la relación L/E ($r = 0,45$ cuando se tuvieron en cuenta todos los valores de CL y $0,53$ cuando se excluyó un valor extremo). No obstante, se observó una notoria dispersión de los datos. Por otro lado, el índice de correlación entre el recuento de CL y la edad gestacional fue de solo $0,33$; sin embargo, solo se contó con 148 datos de edad gestacional confiable. En el estudio de Perego el índice de correlación entre la edad gestacional y los CL fue mas alto ($0,58$); pero el índice de determinación fue $0,33$ lo que indica que solo el 33% de la variación en el recuento de CL estaba determinada por la edad gestacional (24). Además, desde el punto de vista clínico, es mas importante la correlación entre el recuento de CL y la relación L/E ya que, en la toma de decisiones antenatales, generalmente se requiere información acerca de la madurez pulmonar fetal, independientemente de la edad gestacional.

Para investigar si se podía predecir la relación L/E a partir del recuento de CL, se hizo un modelo de regresión lineal simple y se elaboraron gráficas de predicción con sus intervalos de confianza del 95%. De acuerdo con el modelo, un recuento de CL superior a 10.000/ μ L predice una relación L/E ≥ 2.0 . Aunque el coeficiente de regresión β_1 es estadísticamente diferente de cero, la mayor explicación de la varianza está en el residual lo cual muestra que el modelo lineal no se ajusta a los datos. Además el diagnóstico de la regresión⁸¹ mostró que el ajuste del modelo no es bueno. De hecho el R^2 del modelo fue de 0,28 lo cual indica que solo el 28% de la variación total de los valores de la variable dependiente (relación L/E), es explicada por la regresión (47). Por lo tanto la predicción de la relación L/E a partir de un modelo de regresión lineal no se ajusta a nuestros datos.

Nosotros estudiamos 1.145 muestras de LA en un periodo de 10 años. Hasta la fecha éste es el estudio de pruebas de maduración pulmonar más grande realizado en Colombia y uno de los más grandes entre los informados en la literatura. El tamaño de la muestra confiere precisión a las determinaciones y permitieron un número adecuado de observaciones en todas las casillas de las tablas tetracóricas. Otra fortaleza del estudio es el empleo de métodos de laboratorio sólidos, cuya disponibilidad en nuestro medio es muy limitada, pudiéndose encontrar solamente en unas pocas instituciones de alto riesgo obstétrico y perinatal en Colombia. La comparación ciega e independiente de las pruebas de estudio con el patrón de oro aceptado le confiere validez al estudio. Este estudio emprende un análisis sistemático de cada una de las pruebas lipídicas de maduración pulmonar fetal y del recuento de CL para establecer su valor diagnóstico en el Departamento de Obstetricia y Ginecología, en el Instituto Materno Infantil y posiblemente en nuestro medio.

Los resultados de este estudio precisan generalizaciones que en el ámbito clínico se usan a diario, tales como el papel de los fosfolípidos diferentes a lecitina y esfingomielina y el valor de los CL, y establece por primera vez puntos de corte adecuados para el recuento de CL en el IMI. Esta investigación tuvo en cuenta además los diferentes criterios del patrón de oro que se utilizan en perinatología, lo cual modifica la prevalencia del desenlace de interés y las características operativas de las pruebas de laboratorio. Por otro lado, los resultados contribuyen a la práctica clínica suministrando los valores de las razones de verosimilitud (LR) para los diferentes valores del recuento de CL.

Una limitación del estudio es no contar con un buen número de edades gestacionales confiables para el estudio de correlación con el recuento de CL. Aunque se acepta la relación L/E como patrón de oro para determinar madurez pulmonar fetal, sería preferible contar con un patrón de oro complejo en el que se incluyeran el seguimiento clínico de los neonatos y el diagnóstico radiológico e incluso anátomo-patológico de la EMH en los casos de mortalidad. La existencia de tres criterios de la L/E, en un intento para evitar las consecuencias de los falsos positivos, ejemplifican su limitación. Finalmente, se debe tener precaución al extrapolar los resultados del presente estudio a gestaciones que cursan con diabetes hasta que se tenga más información con éste subgrupo de pacientes.

VII. CONCLUSIONES

Se confirma que la presencia de FG es compatible con una relación L/E madura hasta en un 99.5% de los casos: sin embargo, aproximadamente el 70% de los líquidos con FG negativo tuvieron una relación L/E madura, lo cual indica un valor predictivo negativo muy bajo y obliga a considerar

su utilización con otras pruebas diagnósticas, particularmente en ausencia del fosfolípido.

El FI en LA tiene mejor sensibilidad (91,5% a 95,7%), pero menor especificidad (53% a 79,7%) para detectar la relación L/E madura que el FG. La prueba más sensible para la detección de una relación L/E madura fue la determinación de FI y la más específica fue la determinación del FG. Por lo que la ausencia de FI en LA está en contra de la existencia de madurez pulmonar y la presencia de FG en LA apoya el diagnóstico de madurez pulmonar.

Al considerar las consecuencias de los falsos positivos y de los falsos negativos, la prueba preferible cuando el criterio de madurez pulmonar fetal es una relación L/E ≥ 2.5 o ≥ 3.0 es la determinación de FG.

A pesar de los cambios fisiológicos de los fosfolípidos del LA dependientes de la edad gestacional, en todas las combinaciones de dos o en los tres fosfolípidos e independientemente del valor de corte de la relación L/E, la proporción de LA maduros aumenta progresivamente a medida que se tienen más fosfolípidos positivos. La combinación FG y FI tiene mejores características operativas que cualquiera otra combinación de dos y la misma que tres fosfolípidos.

Las características de las curvas ROC y áreas bajo la curva, muestran que el recuento de CL es una prueba válida para determinar la madurez pulmonar fetal independientemente del valor crítico que se tome para la relación L/E.

Cuando el criterio de madurez pulmonar es una relación L/E ≥ 2.0 el mejor punto de corte para el recuento de CL es el de ≥ 10.500 CL/ μ L; con este punto se tiene una sensibilidad del 85,08%,

una especificidad del 82,42%, un LR (+) de 4,83 y un LR (-) de 0,18. Cuando se considera madurez pulmonar fetal una relación L/E ≥ 2.5 , con un punto de corte en 13.100 CL/ μ L obtenemos una sensibilidad del 82,5%, una especificidad del 80,6%, una exactitud del 82,1%, un LR (+) de 4,26 y un LR (-) de 0,21. Finalmente, cuando una relación L/E ≥ 3.0 se considera madurez pulmonar fetal, un punto de corte de 17.000 CL/ μ L ofrece una sensibilidad del 81,22%, una especificidad del 80,61%, una exactitud diagnóstica del 81,04%, un LR (+) de 4,18 y un LR (-) de 0,23.

Se encontraron LR (+) > 10 cuando el recuento de CL fue ≥ 12.300 CL/ μ L para L/E ≥ 2.0 ; ≥ 26.200 CL/ μ L para L/E ≥ 2.5 y ≥ 28.300 CL/ μ L para L/E ≥ 3.0 . Los LR (-) < 0.1 se encontraron cuando el recuento de CL fue ≤ 5.000 CL/ μ L para L/E ≥ 2.0 y L/E ≥ 2.5 , y ≤ 7.800 CL/ μ L para L/E ≥ 3.0 .

Todos los puntos de corte constituyen una orientación para otras instituciones, dado que en la elección influyen otros factores, tales como las consecuencias que se tienen con los falsos positivos y los falsos negativos, las cuales dependen de los recursos de cada institución y de la experiencia en el manejo de neonatos. Por otro lado los puntos de corte pueden depender de particularidades técnicas y metodológicas que deben ser estandarizadas e informadas.

Existe una relación directa entre el recuento de CL y la relación L/E; sin embargo, un modelo de regresión lineal simple no se ajusta a los datos del presente estudio.

Aunque el recuento de CL cumple con los requisitos para ser una buena prueba de maduración pulmonar fetal por ser ampliamente accesible, tener bajos costos, ser reproducible, no requerir equipos ni entrenamientos especiales, necesitar pequeñas

alícuotas de líquido amniótico y no verse afectado por pequeñas cantidades de meconio o por conservación del LA en refrigeración, se deben considerar sus características operativas cuando se tomen decisiones clínicas en cada caso particular.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Biología del Instituto Nacional de Cancerología por facilitar los equipos para las densitometrías de lecitina y esfingomielina.

REFERENCIAS

1. Goldenberg RL. The management of preterm labor. *Obstet Gynecol* 2002; 100:1020-37.
2. Tucker JM, Goldenberg RL, Davis RO, Cooper RL, Winkler CL, Hauth HC. Etiologies of preterm birth in an indigent population: is prevention a logical expectation? *Obstet Gynecol* 1991; 77:343-7.
3. Departamento Nacional de Estadísticas (DANE). Estadísticas Vitales. Cuadro 10. Nacimientos por tiempo de gestación, según departamento, municipio y área de residencia de la madre. Preliminar Enero-Agosto 2004. Página actualizada el 29 de enero de 2006 y consultada en la misma fecha en el sitio: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/nacimientos/nacimientos_2004/Cuadro10.xls
4. Greenough A, Robertson NRC. Acute respiratory disease in the newborn. In: Rennie JM, Robertson NRC, eds. *Textbook of Neonatology*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999: 481-607.
5. Meis PJ, Michielutte R, Peters TJ, Wells HB, Sands RE, Coles EC, et al. Factors associated with preterm birth in Cardiff, Wales. II. Indicated and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:597-9.
6. Gluck L, Kulovich MV, Borer RC Jr, Brenner PH, Anderson GG, Spellacy WN. Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 109:440-452.
7. Grupo de Trabajo Regional Interagencial para la Reducción de la Mortalidad Materna. Reducción de la Mortalidad y la Morbilidad Maternas. Consenso Estratégico Interagencial para América Latina y el Caribe. Washington D.C.: PAHO, 2003.
8. Fondo de Población de las Naciones Unidas. Evolución y estado actual de la mortalidad materna en Colombia, 2001.
9. Saboyá MI. Mortalidad materna en Colombia. Una aproximación ecológica. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Salud Pública. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Departamento de Salud Pública, Bogotá, D.C. 2005.
10. Helena Laboratorios. Helena Fetal-Tek 200 Method. Beaumont, Texas. USA.
11. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Capítulo 15. Lectura de Publicaciones Médicas. En: Dawson-Saunders B, Trapp RG Bioestadística Médica. Segunda Edición. Manual Moderno. México. 1999. pp. 317-341.
12. Echeverry J, Ardila E. Capítulo 13. Pruebas diagnósticas y proceso diagnóstico. En: Ardila E, Sánchez R, Echeverry J. Estrategias de Investigación en Medicina Clínica. Manual Moderno. 1ª. Edición. Bogotá. 2001. P. 135-168.
13. Kramer HC. Medical test: objective and quantitative guidelines. Chapter 14. California, USA. SAGE Publications Inc. 1992.
14. Simel DL, Samsa GP, Matchar DB: Likelihood ratios with confidence: sample size estimation for diagnostic test studies. *J Clin Epidemiol* 1991; 44(8):763-70.
15. Duffau G. Tamaño muestral en estudios sobre pruebas diagnósticas. *Rev Chil Pediatr* [online]. Jun. 1998, vol.69, no.3 [cited 26 March 2006], p.122-125. Available from World Wide Web: <http://scielo-test.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41061998000300008&Ing=en&nrm=iso>. ISSN 0370-4106.
16. Fakhoury G, Daikoku NH, Benser J, Dubin NH, Lamellar body concentrations and the prediction of fetal pulmonary maturity. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 72-76.
17. Torres Y, Maya JM. Capítulo 3. Concepto de Normalidad y Pruebas Diagnósticas. En: Blanco H, Maya JM (Eds.), *Fundamentos de Salud Pública*. Tomo III. Epidemiología Básica y Principios de Investigación. Segunda Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín. 2006. pp. 30-49.
18. Londoño JL. Capítulo 14. Análisis y Evaluación de Pruebas Diagnósticas. En: Londoño JL. Metodología de la Investigación Epidemiológica. Tercera edición. Manual Moderno. Bogotá. 2004. pp. 201-225.
19. Hallman M, Kulovich MV, Kirkpatrick E, Sugarman RG, Gluck L. Phosphatidylinositol and phosphatidylglycerol in amniotic fluid: indices of lung maturity. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 125:613-617.
20. Nájuez H, Ruiz AI, Bautista A, Angel E. Capítulo 23. Maduración Pulmonar Fetal. En: Nájuez H, Ruiz AI y colaboradores: *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, agosto de 1999. pp. 359-369.
21. Cifuentes R. Capítulo 23. Evaluación de la Madurez Fetal. En: Cifuentes R. Obstetricia de Alto Riesgo. Sexta Edición. Editorial Distribuna, Bogotá. 2006. p. 327-338.
22. Gabbe SG, Graves CR. Management of Diabetes Mellitus Complicating Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2003; 102: 857-68.
23. Gómez G. Capítulo 37. Diabetes y Embarazo. En: Cifuentes R. Obstetricia de Alto Riesgo. Sexta Edición. Editorial Distribuna, Bogotá. 2006. pp. 521-538.
24. Perego M del C, Briosio G, Durante C. Conteo de cuerpos lamelares en líquido amniótico: evaluación como test rápido para la predicción de la madurez pulmonar fetal. *Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá* 2000, 19 (2): 60-66.
25. Parra MO, Peralta MT. Capítulo 43. Diabetes y Gestación. En: Nájuez H, Ruiz AI y colaboradores: 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, agosto de 1999. pp. 637-647.
26. Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P. Capítulo 4. Interpretación de los Datos Diagnósticos. En: Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P (Eds). *Epidemiología Clínica. Ciencia Básica para la Medicina Clínica*. Segunda Edición. Editorial Médica Panamericana, México, D.F. 1998. pp. 79 - 175.
27. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. Chapter 3. Diagnosis. En: Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Clinical Epidemiology. The Essentials*. Third Edition. Willimans & Wilkins. Baltimore. 1996. pp. 43 - 74.
28. Pagano M, Gauvreau K. Chapter 6. Probability. En: Pagano M, Gauvreau K. *Principles of Biostatistics*. Second Edition. Duxbury Thomson Learning. California, USA. 2000. pp. 125 - 161.
29. Obuchowski NA. Receiver operating characteristic curves and their use in radiology. *Radiology* 2003; 229: 3-8.
30. Sox HC, Blatt MA, Higgins MC, Marton K. Chapter 9. Selection and Interpretation of Diagnostic Tests. En: Sox HC, Blatt MA, Higgins MC, Marton K. *Medical Decision Making*. 1st. edition. Butter-worths. Boston, USA. 1998. pp. 239-290.
31. Sackett DL, Straus SE, Richardson WS, Rosenberg W, Haynes RB. Chapter 3. Diagnosis and Screening. En: Sackett DL, Straus SE, Richardson WS, Rosenberg W, Haynes RB. *Evidence-Based Medicine. How to Practice and Teach EBM*. Second Edition. Churchill Livingstone, Edinburgh. 2000. pp. 67-93.
32. Ruiz AI. Efecto de la aplicación de un modelo de medicina basada en la evidencia para facilitar la integración entra la teoría y la práctica en el trabajo de los estudiantes de postgrado de obstetricia y ginecología. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Educación con Énfasis en Docencia Universitaria. Universidad Pedagógica Nacional. Bogotá, D.C. Diciembre de 2001.
33. Ruiz AI. Metodología de la medicina basada en la evidencia. Un modelo pedagógico MBE. Material didáctico. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Universidad Nacional de Colombia. Marzo de 2002.
34. Cunningham MD, Desai NS, Thompson SA, Greene JM. Amniotic fluid phosphatidylglycerol in diabetic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 1978; 131(7): 719-24.
35. Szallasi A, Gronowski AM, Eby CS. Lamellar body count in amniotic fluid: a comparative study of four different hematology analyzers. *Clinical Chemistry* 2003; 49:994-997.
36. Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive-pulse counting: relationship to measures of fetal lung maturity. *Clin Chem* 1989; 35: 612-616.
37. Ashwood ER, Palmer EE, Taylor JS, Pingree SS. Lamellar body counts for rapid fetal lung maturity testing. *Obstet Gynecol* 1993; 81:619-624.
38. Cifuentes R. Capítulo 23. Evaluación de la Madurez Fetal. En: Cifuentes R. Obstetricia de Alto Riesgo. Sexta Edición. Editorial Distribuna, Bogotá. 2006. p. 451-466.
39. Lee IS, Cho YK, Kim A, Min WK, Kim KS, Mok JE. Lamellar body count in amniotic fluid as a rapid screening test for fetal lung maturity. *J Perinatol* 1996;16:176-180.
40. Deeks JJ, Morris JM. Evaluating diagnostic tests. *Baillière's Clin Obstet Gynaecol* 1996;10: 613-630.
41. Dalence CR, Bowie LJ, Dohnal JC, Farrell EE, Neerhof MG. Amniotic fluid lamellar body count: a rapid and reliable fetal lung maturity test. *Obstet Gynecol* 1995; 86:235-239.
42. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL for the Evidence-Based Medicine Working Group. Users' guides to the medical literature. VI. How to use an article about a diagnostic test. B: What are the results and will they help me in caring for my patients? *JAMA* 1994; 271:703-707.
43. Londoño JL. Capítulo 14. Análisis y evaluación de pruebas diagnósticas. En Londoño JL. *Metodología de la investigación epidemiológica*. Tercera Edición. Manual Moderno, Bogotá. 2004; pp: 201-225.
44. Cifuentes R, Tabares K. Capítulo 17. Madurez Pulmonar Fetal. En: Cifuentes R (Ed): *Ginecología*

- y Obstetricia Basadas en Nuevas Evidencias. 2ª Edición. Distribuna Editorial, Bogotá, Colombia. 2008. p.117-119.
45. Fagan TS. Nomogram for Bayes theorem. N Engl J Med 1975; 293(2): 257.
46. Straus SE, Badenoch D, Richardson WS, Rosenberg W, Sackett DL. Practising Evidence-based Medicine. Tutor's Manual. Third Edition. Radcliffe Medical Press Ltd. Abingdon, UK. 1998. pp. 49-65.
47. Daniel WW. Capítulo 9. Regresión y Correlación Lineal Simple. En: Daniel WW. Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Cuarta Edición. Editorial Limusa, S.A. de C.V., México, D.F. 2002. pp. 400-473.