
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

Jaqueline Basso Stivanin

Manobra de *Bag Squeezing* em modelo experimental de Síndrome de Aspiração Mecônio.

Porto Alegre, Janeiro de 2012.

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA
CRIANÇA

**Manobra de *Bag squeezing* em modelo
experimental de Síndrome de Aspiração
Mecônio.**

.

Jaqueline Basso Stivanin

Porto Alegre, Janeiro de 2012

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**Manobra de *Bag squeezing* em modelo experimental de Síndrome de
Aspiração Mecônio.**

Jaqueline Basso Stivanin

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade
de Medicina da PUCRS para obtenção de título de
Mestre em Medicina/Pediatria

Orientador: Dr. Humberto Holmer Fiori

Porto Alegre, Janeiro de 2012.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

S862m

Stivanin, Jaqueline Basso

Manobra de *Bag-squeezing* em modelo experimental de síndrome de aspiração de mecônio / Jaqueline Basso Stivanin. – Porto Alegre, 2012.
58 f.: il.

Diss. (Mestrado) - Fac. de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança. Mestrado em Pediatria. PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori.

1. Pediatria – Estudo Experimental. 2. Fisioterapia respiratória. 3. Síndrome de Aspiração de Mecônio. 4. Lavagem Broncoalveolar. 5. Animais Recém-Nascidos (Estudo Experimental). 6. Suínos. 7. Experimentação Animal.
I. Fiori, Humberto Holmer. II. Título.

CDD: 616.23

Bibliotecária Responsável: Alessandra Pinto Fagundes - CRB10/1244

JAQUELINE BASSO STIVANIN

End.: Rua Osório Quadros Sobrinho, nº 85, Pq. Novo Horizonte - Santa Maria/RS.

Fone: (55) 3317.2478 / (55) 9141.7456

e-mail: jaquebstivanin@hotmail.com

CREFITO:139-300-F

Órgão financiador: CNPq

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Juliarde, pelo seu amor e incentivo.

Aos meus pais Elvio e Nita, pelo carinho e incansável apoio.

AGRADECIMENTOS

À **Deus** por ter iluminado meu caminho ao longo do mestrado.

Ao **Dr Humberto Holmer Fiori** pela disponibilidade, orientação e dedicação;

À **Priscila Gularte Padoin** pela participação e dedicação ao estudo;

À **Talitha Comaru** pelo apoio e disponibilidade

A equipe do laboratório de Habilidades Médicas e cirúrgicas da PUCRS, especialmente para o **Gilmar** pelo apoio técnico e disponibilidade;

Aos bolsistas **Mayara Menezes** pela participação efetiva na pesquisa;

Ao veterinário **Giordano Minotti** pelo apoio técnico,

Ao **Hospital São Lucas da PUCRS** pelo apoio dado a essa pesquisa;

À empresa **Languiru** pelo fornecimento dos porcos recém-nascidos;

À empresa **Farmalab-Chiesi** pelo fornecimento do surfactante Curosurf;

Às secretárias **Carla** do Pós Graduação e **Ana** da unidade de tratamento intensivo neonatal do Hospital São Lucas da PUCRS, que foram incansáveis em me ajudar para que este trabalho pudesse ser concluído.

A **minha família**, especialmente meus pais pelo amor que me dedicaram e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao **meu marido**, companheiro de vida, sempre com incansável apoio, amor e incentivo.

Ao **CnPq** pela disponibilização de bolsa de pesquisa.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPITULO II

- Quadro 1**-Resumo dos Ensaio Clínicos Controlados em SAM em RNs Humanos Tratados com diferentes terapias entre 2005-2011.....28
- Quadro 2:** Estudos Controlados que Utilizaram a Amnioinfusão em Mulheres em Trabalho de Parto com Líquido Amniótico Meconial.....29
- Quadro 3** Estudos que utilizaram modelos Animais para induzir a SAM.....30
- Quadro 4:** Estudos Controlados Randomizados em Animais e em Humanos que utilizaram o LBA como Conduta Terapêutica.....32

CAPITULO III

- Figura 1:** Variação da Pressão parcial arterial de Oxigênio (PaO₂ -mmHg) dos diferentes grupos ao longo do experimento.....47

ANEXOS

- Figura 1:** Raios-x de tórax, vista ântero-posterior de modelo animal controle, antes (1a) e após a indução da Síndrome de Aspiração de Mecônio (1b).....58
- Figura 2:** Perfil das variáveis gasométricas entre os grupos nos intervalos de medida após a intervenção terapêutica.....58
-

LISTA DE TABELAS

CAPITULO III

Tabela 1: Análise dos dados gasométricos nos diferentes grupos, antes e depois da instilação de mecônio nas vias aéreas e intervenção terapêutica.....46

Tabela 2: Comportamento da complacência pulmonar e da resistência das vias aéreas entre os grupos ao longo do estudo.....48

ANEXOS

Tabela 1- Dados complementares obtidos ao longo do experimento.....57

Tabela 2- Características do mecônio utilizado para indução da SAM, por grupo.....57

LISTA DE ABREVIATURAS

ECMO - membrana de oxigenação extra-corpórea (extracorporeal membrane oxygenation)

FC-frequencia cardíaca

FR-frequencia respiratória

FiO₂ – fração inspirada de oxigênio

HM- hiperinsuflação manual

IO- Índice de oxigenação

LBA – lavado broncoalveolar

NaCl- cloreto de sódio

PaCO₂ – pressão parcial arterial de dióxido de carbono

PaO₂ – pressão parcial arterial de oxigênio

PEEP - pressão positiva expiratória final (positive end-expiratory pressure)

PH- potencial de hidrogênio

PIP - pressão positiva inspiratória (positive inspiratory pressure)

SAM - síndrome de aspiração de mecônio

TOT-tubo orotraqueal

RESUMO

Introdução: A Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM) é uma doença complexa que pode gerar vários graus de insuficiência respiratória em recém-nascidos. A utilização do lavado bronco alveolar (LBA) com surfactante como terapia vem sendo testada em humanos e em modelos animais obtendo resultados promissores assim como a manobra de Bag-squeezing tem demonstrado bons resultados em adultos

Objetivo: Avaliar os efeitos da associação da manobra de *Bag-Squeezing* com Lavado bronco alveolar com surfactante em modelo experimental de Síndrome de Aspiração de Mecônio em suínos recém-nascidos.

Metodologia: Foram utilizados no estudo suínos recém-nascidos (n=15), ventilados com parâmetros fixos. Após a instilação de 4ml/Kg de mecônio humano diluído a 20% , os suínos foram randomizados em três grupos: Grupo CONTROLE-modelo de SAM submetido somente aspiração (n=5), Grupo LBA-modelo de SAM tratado somente com LBA surfactante(n=5), e o Grupo LBA+BAG-modelo de SAM tratado com LBA com surfactante associado à manobra de Bag-Squeezing (n=5). Para o LBA, foi utilizado 15ml/kg de Curosurf® diluído em NaCl (5mg/ml). Gases arteriais, sinais vitais e comportamento da mecânica ventilatória foram analisados ao longo do estudo.

Resultados: O grupo LBA+BAG obteve uma melhora gasométrica e redução da resistência nas vias aéreas (p=0,004) e complacência pulmonar (p=0,003) melhores em relação aos demais grupos, com significativo aumento na quantidade de mecônio removido (p= 0,046) com a manobra de Bag-squeezing.

Conclusão: a associação da manobra de Bag-squeezing pode trazer benefícios aos parâmetros gasométricos, de mecânica ventilatoria e incrementar a remoção.

Palavras-chave: Aspiração de Mecônio. Modelos experimentais. Fisioterapia respiratória.

ABSTRACT

Introduction: Meconium Aspiration Syndrome (MAS) is a complex disease that can cause varying degrees of respiratory failure in newborns. The use of broncho alveolar lavage (BAL) and surfactant therapy has been tested in humans and in animal models getting promising results as well as Bag-squeezing maneuver has shown good results in adults

Aims: To evaluate the effects of the combination of Bag Squeezing maneuver with broncho-alveolar surfactant in an experimental model of Meconium Aspiration Syndrome in newborn pigs.

Methodology: were used in the study newborn pigs (n = 15), ventilated with fixed parameters. After instillation of human meconium 4ml/Kg diluted to 20%, the pigs were randomized into three groups: CONTROL-SAM model subjected only aspiration (n = 5), Grupo BAL-SAM model treated only with surfactant BAL (n = 5), and Grupo BAL + BAG-SAM model treated with BAL with surfactant associated with Bag Squeezing maneuver (n = 5). For the LBA was used 15ml/kg of Curosurf™ diluted in NaCl (5mg/ml). Blood gases, vital signs and behavior of mechanical ventilation were analyzed throughout the study.

Results: The that group received a BAL + BAG improved blood gas, reduced of airway resistance (p = 0, 004) and compliance lung (p = 0.003) better than the other groups with a significant increase in the amount of meconium removed (p = 0.046) with the bag-squeezing maneuver.

Conclusion: The association of Bag-squeezing maneuver can bring benefits to gasometric parameters mechanical ventilation and increase the removal of meconium.

Keywords: Meconium Aspiration. Experimental models. Chest physiotherapy

SUMÁRIO

CAPITULO I

APRESENTAÇÃO.....	14
JUSTIFICATIVA.....	17
OBJETIVOS.....	18
OBJETIVO GERAL	
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
REFERÊNCIAS.....	19

CAPITULO II

RESUMO.....	22
ABSTRACT.....	23
ARTIGO DE REVISÃO.....	24
REFERENCIAS.....	35

CAPITULO III

RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	41
ARTIGO ORIGINAL.....	42
REFERENCIAS.....	53

CAPITULO IV

CONCLUSÕES.....	55
-----------------	----

ANEXOS

ANEXOS.....	56
-------------	----

CAPÍTULO I INTRODUÇÃO

APRESENTAÇÃO

Apesar de inúmeros avanços nas últimas décadas, a Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM) ainda representa uma das principais causas de morbi-mortalidade no período neonatal, pelo comprometimento respiratório que ocasiona, sobretudo em recém-nascidos a termo¹. As afecções respiratórias muitas vezes conduzem a internação prolongada e à necessidade de suporte ventilatório, o que repercute negativamente no recém-nascido, cujo sistema respiratório encontra-se em desenvolvimento ventilação mecânica.²

A SAM caracteriza-se por graus variados de insuficiência respiratória³. Ademais, o manejo clínico usual é inespecífico, composto por suporte ventilatório e tratamento das complicações⁴. Usualmente, o paciente apresenta, desde o nascimento, uma disfunção respiratória caracterizada por gemência, batimento das asas do nariz, taquipneia, tempo expiratório prolongado e cianose; havendo a história de líquido amniótico meconial e presença de mecônio nas vias aéreas¹.

O mecônio, nas vias aéreas, pode produzir obstrução, inflamação e inibição do surfactante endógeno. Devido a isso, com o objetivo de reverter o efeito inibitório sobre o surfactante, a reposição de surfactante vem sendo estudada, nos últimos anos, e tem mostrado benefícios⁵.

Importa esclarecer que a principal função do surfactante pulmonar é diminuir a tensão superficial alveolar e prevenir o colapso alveolar expiratório. Além disso, deficiência funcional do surfactante provoca diminuição da complacência pulmonar, redução no volume do pulmão, desequilíbrio ventilação-perfusão e aumento resistência vascular pulmonar. Surfactantes exógenos são, portanto, usados para inverter este processo, estabilizando os alvéolos, reduzindo resistência vascular pulmonar e melhorando a relação ventilação perfusão^{6,7}.

Nesse sentido, uma vez que o mecônio provoca obstrução das vias aéreas inferiores e inibição do sistema surfactante, o LBA pode funcionar, removendo o mecônio da via aérea, enquanto restabelece as reservas de surfactante⁷. O lavado bronco alveolar (LBA) com surfactante diluído é um modo de tratamento da Síndrome de Aspiração de Mecônio, e seus efeitos positivos têm sido demonstrados em vários estudos experimentais⁸⁻¹¹, em estudos clínicos realizados com recém-nascidos humanos^{12,13}.

A fisioterapia respiratória neonatal tem, como objetivo básico, a depuração brônquica, a remoção de secreções e tampões mucosos e a consequente melhora na troca gasosa, a prevenção de atelectasias através de técnicas específicas.¹⁴ A manobra de *Bag-squeezing* é uma

técnica fisioterapêutica que tem, por objetivos, a higiene brônquica e/ou o recrutamento alveolar e, teoricamente, associada ao LBA lavado bronco-alveolar, poderia maximizar seus efeitos e contribuir com a remoção de mecônio e o restabelecimento da função pulmonar em recém nascidos com SAM. Portanto, torna-se importante investigar as possíveis vantagens e riscos relacionados à manobra de *Bag-squeezing* associada ao LBA com surfactante, como estratégia de tratamento, utilizando modelos experimentais em animais.

O Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da PUC/RS, através de trabalho desenvolvido no laboratório de habilidades médicas e pesquisas cirúrgicas, vem utilizando porcos recém-nascidos como modelo experimental¹⁵⁻¹⁷, tendo desenvolvido modelos experimentais de Síndrome de Aspiração de Mecônio, o que viabilizou a realização de um projeto de utilização da Manobra de *Bag Squeezing*, associada ao LBA com surfactante.

Sendo assim, este trabalho foi desenvolvido dentro da linha de pesquisa de surfactante pulmonar no programa de pós-graduação em pediatria e saúde da criança na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Para tanto, no desenvolvimento desta dissertação, serão abordados em capítulos a estrutura do estudo para melhor entendimento do mesmo, sendo eles: capítulos I, II, III e IV.

No capítulo I, serão abordados os objetivos geral e específicos do estudo desenvolvido, caracterizando o questionamento principal: *o uso de técnicas de fisioterapia respiratória associadas ao LBA com surfactante pode contribuir benéficamente na evolução da SAM em um modelo experimental suíno?* E, como objetivos específicos: a análise de parâmetros gasométricos, da mecânica ventilatória e da quantidade de mecônio removida após os procedimentos, bem como o desdobramento desse questionamento em parâmetros de investigação, que são determinantes para avaliação da doença e tratamento em questão, tais como: os parâmetros gasométricos, fisiologia da mecânica ventilatória e quantidade de mecônio removida no final dos procedimentos. A justificativa do estudo também é apresentada neste capítulo.

No capítulo II, está apresentado o artigo de revisão, sobre os estudos controlados e randomizados em humanos e em modelos experimentais animais sobre a SAM, abordando aspectos como: tratamento empregado, objetos dos estudos e resultados obtidos.

O capítulo III, por sua vez, apresenta um artigo original, resultado de uma pesquisa experimental com modelo de SAM desenvolvido para a investigação da inclusão da manobra de *Bag squeezing* e seus potenciais benefícios, associada ao tratamento com LBA com surfac-

tante. No capítulo IV, são apresentadas as principais conclusões do estudo e, posteriormente, apêndices, com tabelas que não foram apresentadas no artigo original.

JUSTIFICATIVA

A realização deste estudo justificou-se pela necessidade de se estabelecer formas rápidas, viáveis e eficazes de otimizar a remoção de resíduos de mecônio, em recém nascidos, com SAM, e da escassez de estudos utilizando recursos de fisioterapia respiratória associados ao LBA com esse objetivo.

OBJETIVOS**OBJETIVO GERAL**

Analisar os efeitos da manobra de *Bag-squeezing* associada ao lavado bronco alveolar com surfactante em modelo experimental de Síndrome de Aspiraço de Mecônio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar os efeitos da Manobra de *Bag-Squeezing* associada ao lavado broncoalveolar com surfactante sobre:

- Os Parâmetros da gasometria arterial ao longo do experimento;
 - A Mecânica ventilatória: complacência pulmonar dinâmica e resistências das vias aéreas;
 - A Quantidade de mecônio removida;
 - Comparar os resultados sobre a gasometria e função pulmonar do LBA seguido ou não da manobra do *Bag-squeezing*.
-

REFERÊNCIAS

1. Dargaville PA, Copnell B. The epidemiology of meconium aspiration syndrome: incidence, risk factors, therapies, and outcome. *Pediatrics*. May 2006;117(5):1712-1721.
2. Lewis JA, Lacey JL, Henderson-Smart DJ. A review of chest physiotherapy in neonatal intensive care units in Australia. *J Paediatr Child Health*. Aug 1992;28(4):297-300.
3. Lam BC, Yeung CY. Surfactant lavage for meconium aspiration syndrome: a pilot study. *Pediatrics*. May 1999;103(5 Pt 1):1014-1018.
4. Wiswell TE, Peabody SS, Davis JM, et al. Surfactant therapy and high-frequency jet ventilation in the management of a piglet model of the meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. Oct 1994;36(4):494-500.
5. B. SBCTR. Surfactant inhibition in experimental meconium aspiration syndrome. *Acta Paediatr* 1993;82: 182-189.
6. Sweet DG, Halliday HL. The use of surfactants in 2009. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. Jun 2009;94(3):78-83.
7. Korhonen K, Soukka H, Halkola L, et al. Meconium induces only localized inflammatory lung injury in piglets. *Pediatr Res*. Aug 2003;54(2):192-197.
8. Dargaville PA, Mills JF, Headley BM, et al. Therapeutic lung lavage in the piglet model of meconium aspiration syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. Aug 15 2003;168(4):456-463.
9. Lam BC, Yeung CY, Fu KH, et al. Surfactant tracheobronchial lavage for the management of a rabbit model of meconium aspiration syndrome. *Biol Neonate*. 2000;78(2):129-138.
10. Ohama Y, Ogawa Y. Treatment of meconium aspiration syndrome with surfactant lavage in an experimental rabbit model. *Pediatr Pulmonol*. Jul 1999;28(1):18-23.
11. Sevecova-Mokra D, Calkovska A, Drgova A, et al. Treatment of experimental meconium aspiration syndrome with surfactant lung lavage and conventional vs. asymmetric high-frequency jet ventilation. *Pediatr Pulmonol*. Oct 2004;38(4):285-291.
12. Wiswell TE, Knight GR, Finer NN, et al. A multicenter, randomized, controlled trial comparing Surfaxin (Lucinactant) lavage with standard care for treatment of meconium aspiration syndrome. *Pediatrics*. Jun 2002;109(6):1081-1087.
13. Lu KW, William Tausch H, Robertson B, et al. Polymer-surfactant treatment of meconium-induced acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. Aug 2000;162(2 Pt 1):623-628.
14. Nicolau CM FM. Efeitos da fisioterapia respiratória em recém-nascidos: análise crítica da literatura. *Rev Paul Ped* 2007;25 (1) 72-5.
15. DINIZ EMAF, R. M. . Curosurf Therapy in severe meconium aspiration. *Biology of the Neonate*. 1995;v. 67, n. 1, p. 86-86, 1995.
16. Tessler R, Wu S, Fiori R, et al. Sildenafil acutely reverses the hypoxic pulmonary vasoconstriction response of the newborn pig. *Pediatr Res*. Sep 2008;64(3):251-255.

17. Colvero MO, Fiori HH, Fiori RM, *et al.* Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;93(3):188-192.

CAPÍTULO II
ARTIGO DE REVISÃO

Estudos controlados em Síndrome de Aspiração de Mecônio: uma revisão atualizada.

Controlled studies in Meconium Aspiration Syndrome: a updated review.

RESUMO

Objetivos: revisar estudos controlados e randomizados, sobre a Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM), em humanos e em modelos experimentais animais, e suas diferentes intervenções terapêuticas.

Fonte de dados: A busca foi realizada nas bases eletrônicas de dados Cochrane Central Register of Controlled Trials e a National Library of Medicine (MEDLINE, PUBMED). Dentre os quais, foram selecionados artigos, utilizando os seguintes termos combinados: animais (*animals*), humanos (*Humans*), ensaio clínico controlado (*Randomized Controlled Trial*) síndrome de aspiração de mecônio (*meconium aspiration syndrome*) ou somente aspiração de mecônio (*meconium aspiration*). Além disso, foram pesquisados estudos randomizados e controlados em seres humanos e estudos experimentais em animais, entre os anos de 2005 e 2011, envolvendo a síndrome de aspiração de mecônio (SAM).

Síntese dos Dados: segundo os descritores já mencionados essa pesquisa possibilitou encontrar 27 artigos considerados elegíveis e que foram realizados a fim de investigar diferentes intervenções terapêuticas na SAM utilizando humanos ou modelos

Conclusão: Os estudos revisados apontam para a possibilidade de se desenvolver estudo promissores sobre SAM em humanos ou utilizando modelos experimentais.

Palavras-chave: Aspiração de Mecônio. Ensaio Clínico Controlado. Tratamento.

ABSTRACT

Aims: To review randomized controlled trials on the Meconium Aspiration Syndrome (MAS), in humans and in experimental animal models, and its different therapeutic interventions.

Source of data: The search was conducted in electronic databases Cochrane Central Register of Controlled Trials and the National Library of Medicine (MEDLINE, PUBMED). Among them were selected articles, combined using the following terms: animals (animals), human (Humans), controlled clinical trials (Randomized Controlled Trial) meconium aspiration syndrome (meconium aspiration syndrome) or only meconium aspiration (meconium aspiration). In addition, were surveyed randomized and controlled in humans and experimental animal studies, between the years 2005 and 2011, involving the meconium aspiration syndrome (MAS).

Summary of findings: according the descriptors mentioned, this research to find 27 articles considered eligible and were performed in order to investigate different therapeutic interventions in humans or using SAM models

Conclusion: The reviewed studies indicate the possibility of developing promising study on using SAM in humans or experimental models.

Keywords: Meconium Aspiration. Controlled Trial. Treatment.

Introdução

A Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM) acomete recém-nascidos a termo e pós-termo, caracterizando-se por graus variados de insuficiência respiratória.¹ O líquido amniótico com evidência de mecônio é observado em 8% a 15% dos recém-nascidos.²⁻⁴ Das crianças, nas quais a SAM se desenvolve, mais de 4% morrem, o que representa 2% de todas as mortes perinatais⁵, justificando a necessidade da realização de estudos a cerca dessa doença. O Mecônio, no pulmão neonatal, inicia uma resposta fisiopatológica complexa, incluindo obstrução e inflamação das vias aéreas, disfunção de surfactante pulmonar e necrose tecidual. Em conjunto, o quadro provocado pelo mecônio pode ser agravado por acidose fetal e depressão fetal ao nascimento.^{5,6}

A baixa incidência de SAM e sua aparente redução, nos últimos anos, sugerem que as recentes práticas obstétricas podem, na sua maior parte, interromper a cadeia de eventos que resultam na aspiração de mecônio.⁷ O manejo clínico usual é inespecífico, composto por suporte ventilatório e tratamento das complicações⁸. Diante disso, terapias que alterem os mecanismos fisiopatológicas, visando à restauração da função surfactante pulmonar, remoção do mecônio das vias aéreas e redução da inflamação foram testadas com graus variáveis de sucesso através de estudos relevantes e amplamente citadas na literatura científica, uma em humanos e duas em animais. Em relação às pesquisas em humanos, a exemplo de Wiswell *et al* (2002)⁸, concluiu-se que o lavado broncoalveolar LBA com Surfaxin™ em todas parece ser uma terapia segura e potencialmente eficaz no tratamento do SAM. Em animais, como Dargaville PA *et al* (2003)⁹ e Nakamura *et al* (2000),¹⁰ usando modelos experimentais, concluíram respectivamente, que o LBA com surfactante diluído (30-ml/kg) administrado em duas alíquotas remove quantidades significativas de mecônio do pulmão, resultam em melhora sustentada na troca gasosa e lesão pulmonar reduzida, e que a eficácia da ventilação em SAM pode ser, parcialmente, reforçada pelo pré-tratamento com LBA com surfactante exógeno.

Portanto, o objetivo desta revisão foi descrever e analisar, criticamente, estudos randomizados e controlados, desenvolvidos em seres humanos, e estudos experimentais desenvolvidos em animais em Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM).

Métodos

Esta revisão focalizou estudos randomizados e controlados, entre os anos de 2005 e 2011, e estudos experimentais publicados, neste mesmo período, envolvendo a síndrome de aspiração de mecônio (SAM), por meio de busca nas bases eletrônicas de dados Cochrane Central Register of Controlled Trials e a National Library of Medicine (MEDLINE, PUBMED). Para tanto, foram selecionados artigos utilizando os seguintes termos combinados, animais (*animals*), humanos (*Humans*). Estudos controlados randomizados (*Randomized Controlled Trial*) síndrome de aspiração de mecônio (*meconium aspiration syndrome*) ou somente aspiração de mecônio (*meconium aspiration*). Ademais, foram excluídos os estudos que não contemplavam a palavra mecônio (*meconium*) no título. Para a avaliação das informações, foram considerados os seguintes itens: objetivo do estudo; sujeito ou modelo animal envolvido na pesquisa; intervenção terapêutica utilizada, objetivo principal e conclusão dos autores.

Estudos controlados e modelo animal

Por estudos controlados, entende-se consistem em experimento onde os sujeitos são escolhidos aleatoriamente para um grupo de tratamento ou grupo controle. Estes estudos têm um nível de evidência 2, sendo que o nível e a qualidade das evidências é que proporcionam subsídios para auxiliar o profissional na avaliação crítica de resultados oriundos de pesquisas e, conseqüentemente, na tomada de decisão sobre a incorporação das evidências à prática clínica.¹¹

Por estudos em modelo animal, entende-se que, obrigatoriamente, devem permitir a avaliação de fenômenos biológicos naturais, induzidos ou comportamentais, que possam ser comparados aos fenômenos humanos em questão.¹² Além disso, os modelos animais são usados, em todos os campos da pesquisa biológica nos dias de hoje. Assim, o conceito de doença animal é aquela cujos mecanismos patológicos são suficientemente similares àqueles de uma doença humana, servindo a doença animal como modelo. A doença animal pode ser tanto induzida, como de ocorrência natural. Ademais, o uso de modelos de doença animal pode superar estas limitações e proporcionar a investigação de uma relação causal de modo mais rápido, menos trabalhoso e menos oneroso.¹³

Resultados

A busca segundo os descritores já mencionados permitiu encontrar 27 artigos sendo 12 em humanos e 15 utilizando modelos experimentais animais, considerados elegíveis, os estudos selecionados e revisados foram os seguintes. :

Estudos desenvolvidos em humanos: *Inflammatory markers in meconium induced lung injury in neonates and effect of steroids on their levels: a randomized controlled trial.*¹⁴; *Role of steroids on the clinical course and outcome of meconium aspiration syndrome-a randomized controlled trial*¹⁵, *The effect of steroids on the clinical course and outcome of neonates with meconium aspiration syndrome*¹⁶, *Role of antibiotics in meconium aspiration syndrome*¹⁷, *Role of antibiotics in management of non-ventilated cases of meconium aspiration syndrome without risk factors for infection*¹⁸, *Treatment of severe meconium aspiration syndrome with porcine surfactant: a multicentre, randomized, controlled trial*¹⁹, *Randomized controlled trial of lung lavage with dilute surfactant for meconium aspiration syndrome*⁹, *Treatment of MAS with PPHN using combined therapy: SLL, bolus surfactant and Ino*²⁰, *A randomized controlled study on the efficacy of inhaled nitric oxide in treatment of neonates with meconium aspiration syndrom*,²¹, *Intrapartum amnioinfusion in patients with meconium-stained amniotic fluid*²², *Does amnioinfusion reduce caesarean section rate in meconium-stained amniotic fluid*²³ *Amnioinfusion for the prevention of the meconium aspiration syndrome*²⁴

Estudos realizados com modelos experimentais animais: *Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome*²⁵ *Combination of budesonide and aminophylline diminished acute lung injury in animal model of meconium aspiration syndrome*²⁶. *Total liquid ventilation efficacy in an ovine model of severe meconium aspiration syndrome.*²⁷. *Comparative effects of bronchoalveolar lavage with saline, surfactant, or perfluorocarbon in experimental meconium aspiration syndrome.*²⁸ *Surfactant lavage decreases systemic interleukin-1 beta production in meconium aspiration syndrome.*²⁹ *Albumin lavage does not improve the outcome of meconium aspiration syndrome.*³⁰ *Refining the method of therapeutic lung lavage in meconium aspiration syndrome.*³¹ *Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome.*³² *CC10 reduces inflammation in meconium aspiration syndrome in newborn piglets.*³³ *Effects of therapeutic bronchoalveolar lavage and partial liquid ventilation on meconium-aspirated newborn*

*piglets.*³⁴ *Bronchoalveolar lavage with pulmonary surfactant/dextran mixture improves meconium clearance and lung functions in experimental meconium aspiration syndrome.*³⁵ *Aminophylline treatment in meconium-induced acute lung injury in a rabbit model*³⁶. *Intratracheally administered corticosteroids improve lung function in meconium-instilled rabbits.*³⁷ *Single-dose versus two-dose dexamethasone effects on lung inflammation and airway reactivity in meconium-instilled rabbits.*³⁸ *Apoptosis of airway epithelial cells in response to meconium.*³⁹

Pesquisas em seres humanos

No Quadro 1, são apresentados os estudos controlados desenvolvidos em recém-nascidos humanos com SAM, com diferentes opções terapêuticas para a SAM entre elas: o uso de esteroides, de surfactante e de antibiótico terapia.

Quadro 1-Resumo dos ensaios clínicos controlados em SAM em recém-nascidos humanos tratados com diferentes terapias entre 2005-2011.

Tratamento	Autor (ano)	N	Objetivos
Esteróides			
	Tripathi S. <i>et al</i> ¹⁴ (2007)	51	Avaliar o efeito sobre marcadores inflamatórios
	Basu, S. <i>et al</i> ¹⁵ (2007)	99	Avaliar os efeitos sobre o curso da doença e efeitos adversos
	Tripathi, S. <i>et al.</i> ¹⁶ (2007)	51	Avaliar a função da intervenção no manuseio da SAM
Antibiótico			
	Basu, S. <i>et al</i> ¹⁷ (2007)	144	Avaliar a Inclusão da administração de antibiótico na rotina da SAM
	Lin, H. C. <i>et al</i> ¹⁸ (2005)	306	Avaliar a Ação sobre a infecção Perinatal
Surfactante			
	Dargaville, P. A. <i>et al</i> ⁹ (2011)	66	Avaliar a influencia da intervenção na duração do suporte ventilatório mecânico ou de outros desfechos da SAM.
	Chinese Collaborative Study Group for Neonatal Respiratory Diseases (2005) ¹⁹	61	Avaliar a eficácia da terapia surfactante exógeno de reposição na SAM.
Oxido nítrico+surfactante			
	Gadzinowski J <i>et al</i> (2008) ²⁰	13	Comparar a eficácia da terapia com surfactante seguida de oxido nítrico.
Óxido nítrico			
	Liu CQ, <i>et al</i> (2008) ²¹	46	Avaliar os efeitos da intervenção na oxigenação e outros resultados em recém-nascidos com SAM.

Definição das abreviaturas: SAM - Síndrome de Aspiração de Mecônio, n- número de recém-nascidos com SAM.

Alguns estudos revisados¹⁴⁻¹⁶ investigaram se a utilização de esteroides poderia suprimir os níveis dos marcadores inflamatórios, alterar o curso clínico da SAM e melhorar o resultado sem causar efeitos adversos graves. A partir destes estudos, concluiu-se que o nível de marcadores inflamatórios é suprimido com o uso de esteroides¹⁴, que são eficazes no manejo da SAM¹⁵, que a via de administração não tem a ver com a eficácia e, finalmente, que os esteróides podem alterar o curso da síndrome de aspiração de mecônio e afetar o resultado favoravelmente.¹⁶

Outros estudos investigam a função da terapia antibiótica de rotina no manejo da SAM.¹⁷ Segundo os autores, o tratamento com antibiótico não é capaz de afetar o curso

clínico, quanto aos resultados relacionados à infecção medida pela incidência de pneumonia e sepsis até 2 meses de idade, nas crianças com SAM que não apresentam fatores de risco para a infecção perinatal e sem necessidade de ventilação mecânica¹⁸.

Foram avaliadas a segurança e a eficácia da terapia com surfactante exógeno de reposição para a Síndrome de Aspiração de mecônio grave (SAM), em recém-nascidos, a termo e pós-termo¹⁹, investigado se a lavagem pulmonar com surfactante altera a duração do suporte ventilatório mecânico, ou de outros resultados na SAM⁹. Os estudos revisados indicam que a reposição com surfactante exógeno melhorou a oxigenação dos sujeitos do estudo, sugerindo que o surfactante pode ter um papel no tratamento do SAM grave em bebês nascidos a termo e pós-termo¹⁹. Segundo os autores, o LBA não altera a duração do suporte respiratório, mas pode reduzir a mortalidade, especialmente, em unidades que não oferecem membrana de oxigenação por membrana extra corpórea (ECMO)⁹.

O óxido nítrico combinado com terapia de reposição de surfactante exógeno (*Survanta*TM) não demonstrou nenhuma vantagem sobre tratamento com surfactante em bolus, em crianças com SAM com hipertensão pulmonar persistente.²⁰ Neste, quando utilizado de forma isolada, observou-se melhora efetiva na oxigenação, redução do tempo de ventilação mecânica e do tempo de internação hospitalar, sem aumento do risco de hemorragia intraventricular e pneumotórax nos recém-nascidos com SAM investigados.²¹

Quadro 2: Estudos controlados que utilizaram a amnioinfusão em mulheres em trabalho de parto com líquido amniótico meconial.

Tratamento	Autor (ano)	n	Objetivos
Amnionfusão			
	Choudhary, D. <i>et al</i> (2010) ²³	292	Avaliar a segurança e a eficácia da técnica.
	Engel, K. <i>et al</i> (2008) ²²	93	Avaliar o efeito da técnica intra-parto
	Fraser, W.D. <i>et al</i> (2005) ²⁴	1998	Avaliar a morte, ocorrência de SAM moderada ou grave ou ambos

Definição de abreviaturas: n - número de mulheres em trabalho de parto

No Quadro 2, são apresentados estudos controlados e randomizados que utilizaram a técnica de amnioinfusão. A amnioinfusão foi investigada, nos últimos anos, quanto a sua relação com mortalidade perinatal e o desenvolvimento de SAM moderada ou grave, ou ambos, avaliando seu efeito intraparto²⁴, sua segurança e a sua eficácia²³. Concluiu-se com

estes estudos. que amnioinfusão não reduziu o risco de desenvolver a SAM moderada ou grave, nem a morte perinatal ²², tão pouco melhorou o índice de Apgar, ou outros distúrbios maternos ou neonatais, que são associados com diminuição significativa da acidemia neonatal ²⁴. Recentemente, foi realizado um estudo ²³, que definiu a amnioinfusão transcervical, em trabalho de parto, com presença de líquido amniótico meconial, como um procedimento simples, seguro e fácil de executar. Os autores sugerem que o procedimento poderia ser realizado com segurança durante o trabalho de parto em locais com instalações limitadas, especialmente, nos países em desenvolvimento, para diminuir a intervenção cirúrgica intraparto e reduzir a morbidade e mortalidade materno-fetal.

Pesquisa em animais

Foram encontrados 15 estudos com diferentes modelos animais para a indução da SAM, testando diferentes terapias, conforme apresentado no Quadro 3.

Quadro 3: Estudos que utilizaram modelos Animais para induzir a SAM.

Autor (ano)	n	Modelo animal	Idade do animal	Indução da SAM (ml/Kg)
Avoine, O. <i>et al</i> (2011) ²⁷	23	cordeiros	recém-nascidos	2
Rey-Santano <i>et al</i> (2011) ²⁸	24	cordeiros	<6 dias	3-5
Wang, P.W. <i>et al</i> (2009) ²⁹	12	Suíños	recém-nascidos	3-5
Salvesen, B. <i>et al</i> (2008) ³⁰	16	Suíños	recém-nascidos	4
Dargaville, P.A. <i>et al</i> (2008) ³¹	11	Suíños	2 semanas	4
Colvero, M.O. <i>et al</i> (2008) ³²	15	Suíños	recém-nascidos	4
Angert, R.M. <i>et al</i> (2007) ³³	16	Suíños	1-3 dias	3
Mokra, D. <i>et al</i> (2008) ²⁶	28	Coelhos	Adultos	4
Calkovska, A. <i>et al</i> (2008) ³⁵	18	Coelhos (chinchila)	Jovens	4
Mokra, D. <i>et al</i> (2007) ³⁶	20	coelhos	Adultos	4
Mokra, D. <i>et al</i> (2007) ³⁷	21	coelhos (chinchila)	Adultos	4
Mokra, D. <i>et al</i> (2007) ³⁸	21	coelhos (chinchila)	Adultos	4
Jeng, M.J. <i>et al</i> (2006) ³⁴	27	Suíños	recém-nascidos	3-5
Zagariya, A. <i>et al</i> (2005) ³⁹	50	coelhos	42 semanas(filhotes)	1,2
Zhang, E. <i>et al</i> (2005) ²⁵	23	coelhos	Adultos	5

Definição das abreviaturas: SAM- síndrome de aspiração de mecônio, n-número de animais utilizados, Indução da SAM (ml/Kg)-quantidade de meconio utilizada para a indução de acordo com o peso do animal

A investigação dos possíveis efeitos do LBA com surfactante no tratamento da SAM, tanto em modelos experimentais em animais quanto em recém-nascidos humanos, aparece de forma recorrente nos estudos revisados controlados e randomizados a cerca da SAM, conforme apresentado no Quadro 4.

Quadro 4: Estudos Controlados Randomizados em Animais e em Humanos que utilizaram o LBA como Conduta Terapêutica

	Objetivos	n	Conclusões
Humanos			
Dargaville, P.A. <i>et al</i> (2011) ⁹	Avaliar se o LBA com surfactante altera a duração do suporte ventilatório mecânico ou de outros resultados na SAM.	66	A terapia proposta não altera a duração do suporte respiratório, mas pode reduzir a mortalidade, especialmente em unidades não oferecem ECMO.
Gadzinowski, J. <i>et al</i> (2008) ²⁰	Comparar a eficácia do tratamento com surfactante seja por bolus ou LBA com surfactante pulmonar seguido de terapia de óxido nítrico inalado (NOi).	13	Os bebês tratados com LBA teve melhorias significativas na oxigenação, diminui em gradientes de pressão média das vias aéreas e de diferenças alvéolo-arterial. Mas não houve diferenças significativas na duração da ventilação, o tratamento NOi, duração da hospitalização ou complicações.
Animais			
Rey-Santano, C. <i>et al</i> (2011) ²⁸	Comparar a eficácia do LBA conforme o tipo de diluição.	24	O LBA com Lucinactant™ diluída é uma terapia eficaz produzir melhoras significativas nas trocas gasosas, hipertensão pulmonar e mecânica pulmonar. LBA com perfluorocarbono parece conferir algumas vantagens sobre a lavagem com volumes iguais de solução salina ou nenhuma lavagem.
Colvero, M.O. <i>et al</i> (2008) ³²	Avaliar o efeito do LBA com NaCl 0,9% seguida de uma dose complementar de surfactante em um modelo de leitão da síndrome de aspiração meconial.	15	O LBA com NaCl 0,9% seguida de uma dose suplementar de surfactante pode melhorar a oxigenação em um modelo experimental de leitões de SAM.
Calkovska, A. <i>et al</i> (2008) ³⁵	Avaliar se o enriquecimento de surfactante natural modificado com Dextran aumenta a limpeza de mecônio do espaço aéreo durante a lavagem pulmonar e melhora a função pulmonar em SAM experimental.	18	O enriquecimento de Curosurf™ com Dextran™ melhora as funções do surfactante pulmonar e depuração de mecônio.
Zhang, E. <i>et al</i> (2005) ²⁵	Avaliar os efeitos do LBA convencionail com surfactante exógeno diluída combinado com CPT(Bag-squeezing)	23	Uma combinação de surfactante exógeno lavagem e CPT (Bag-squeezing) melhorou parâmetros respiratórios em SAM.

Definição das abreviaturas: SAM-Síndrome de Aspiração de Mecônio LBA- lavado broncoalveolar, n- número de sujeitos (humanos e animais) ECMO- *Extracorporeal Membrane Oxygenation* oxigenação por membrana extra corpórea, NaCl-cloreto de sódio, CPT-*chest physical therapy* fisioterapia respiratória, NOi -*Nitric Oxide inhaled* óxido nítrico inalado

Discussão

De acordo com a revisão proposta, foram encontrados estudos recentes em humanos e em animais sobre a SAM. Ambos têm, como principais desfechos, independente da terapia proposta, os parâmetros gasométricos e a eficácia das terapias sobre a doença.

Observou-se que as terapias que utilizam surfactante e amnioinfusão relatam resultados animadores e que, somente nos estudos que envolvem essas terapias, a segurança do tratamento foi tratada pelos autores como um dos desfechos. Um estudo sobre amnioinfusão²² sugere uma redução na morbidade e mortalidade materno-fetal, assim como os estudos sobre terapia com surfactante⁹ sugerem redução da mortalidade neonatal. Quanto as outras terapias, os esteroides demonstram resultados favoráveis, enquanto os antibióticos não demonstram interferir no curso clínico da doença.

Entre os estudos revisados, animais de diversas espécies foram utilizados para induzir a SAM, o que possibilitou traçar o perfil dos animais utilizados nessas pesquisas e que utilizaram LBA como tratamento, nas quais o coelho e o suíno aparecem, com mais frequência seguidos pelo cordeiro. Quanto à idade dos animais utilizados, observou-se que associação dos descritores [aspiração de mecônio + modelo animal] mostrou que os suínos^{9, 29, 30, 32-34} recém-nascidos, seguidos de coelhos^{25, 36-39},^{26, 35}, adultos foram os mais utilizados.. Muitos estudos^{26, 30-32, 35-38} também são semelhantes quanto à quantidade de mecônio utilizada para induzir a SAM.

A presente revisão evidencia a escassez de estudos controlados utilizando modelos animais em SAM realizados até o momento e aponta para a possibilidade de se desenvolver estudos promissores nessa área, investigando variáveis já estudadas em humanos de forma similar, ou controlando variáveis cujo papel ainda é desconhecido no desenvolvimento SAM.

Nos estudos controlados, tanto em animais quanto em humanos, devem ser consideradas as diferenças individuais dos sujeitos ou do modelo, o que pode justificar porque todos os tratamentos propostos apresentam resultados conflitantes entre os estudos ao mesmo tempo, apontam resultados promissores. Assim, sugere-se a realização de mais estudos randomizados e controlados em animais e em humanos a fim de elucidar o curso da SAM e determinar com segurança a utilização de tratamentos eficazes.

Considerações finais

Esta revisão se propôs a analisar estudos controlados e randomizados na SAM em humanos e estudos envolvendo modelos experimentais. Espera-se que a síntese aqui apresentada possa mostrar-se útil para elucidar sobre o estágio atual de desenvolvimento dessas pesquisas, e que possa contribuir para a realização de novos estudos nessa área. Os estudos realizados até o momento apontam para a possibilidade de se desenvolver estudos promissores sobre SAM em humanos, ou utilizando modelos experimentais.

REFERÊNCIAS

1. Lam BC, Yeung CY. Surfactant lavage for meconium aspiration syndrome: a pilot study. *Pediatrics*. May 1999;103(5 Pt 1):1014-1018.
2. Keenan WJ. Recommendations for management of the child born through meconium-stained amniotic fluid. *Pediatrics*. Jan 2004;113(1 Pt 1):133-134.
3. Bhutani VK. Developing a systems approach to prevent meconium aspiration syndrome: lessons learned from multinational studies. *J Perinatol*. Dec 2008;28 Suppl 3:S30-35.
4. Fanaroff AA. Meconium aspiration syndrome: historical aspects. *J Perinatol*. Dec 2008;28 Suppl 3:S3-7.
5. Cleary GM, Wiswell TE. Meconium-stained amniotic fluid and the meconium aspiration syndrome. An update. *Pediatr Clin North Am*. Jun 1998;45(3):511-529.
6. van Ierland Y, de Beaufort AJ. Why does meconium cause meconium aspiration syndrome? Current concepts of MAS pathophysiology. *Early Hum Dev*. Oct 2009;85(10):617-620.
7. Dargaville PA, Copnell B. The epidemiology of meconium aspiration syndrome: incidence, risk factors, therapies, and outcome. *Pediatrics*. May 2006;117(5):1712-1721.
8. Wiswell TE, Knight GR, Finer NN, et al. A multicenter, randomized, controlled trial comparing Surfaxin (Lucinactant) lavage with standard care for treatment of meconium aspiration syndrome. *Pediatrics*. Jun 2002;109(6):1081-1087.
9. Dargaville PA, Copnell B, Mills JF, et al. Randomized controlled trial of lung lavage with dilute surfactant for meconium aspiration syndrome. *J Pediatr*. Mar;158(3):383-389 e382.
10. Nakamura T, Matsuzawa S, Sugiura M, et al. A randomised control study of partial liquid ventilation after airway lavage with exogenous surfactant in a meconium aspiration syndrome animal model. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. Mar 2000;82(2):F160-162.
11. Stillwell SB, Fineout-Overholt E, Melnyk BM, et al. Evidence-based practice, step by step: searching for the evidence. *Am J Nurs*. May;110(5):41-47.
12. Ferreira Lm FL. Experimental Model: Historic And Conceptual Revision. *Acta Cir Bras*. 2003;18:1.
13. Holopainen HA, J. Laine, H. Peuravuori, et al. Human meconium has high phospholipase A2 activity and induces cellular injury and apoptosis in piglet lungs. *Pediatric Research*. 1999;46(5): pp. 626–632.
14. Tripathi S, Saili A, Dutta R. Inflammatory markers in meconium induced lung injury in neonates and effect of steroids on their levels: a randomized controlled trial. *Indian J Med Microbiol*. Apr 2007;25(2):103-107.
15. Basu S, Kumar A, Bhatia BD, et al. Role of steroids on the clinical course and outcome of meconium aspiration syndrome-a randomized controlled trial. *J Trop Pediatr*. Oct 2007;53(5):331-337.
16. Tripathi S, Saili A. The effect of steroids on the clinical course and outcome of neonates with meconium aspiration syndrome. *J Trop Pediatr*. Feb 2007;53(1):8-12.
17. Basu S, Kumar A, Bhatia BD. Role of antibiotics in meconium aspiration syndrome. *Ann Trop Paediatr*. Jun 2007;27(2):107-113.
18. Lin HC, Su BH, Tsai CH, et al. Role of antibiotics in management of non-ventilated cases of meconium aspiration syndrome without risk factors for infection. *Biol Neonate*. 2005;87(1):51-55.

19. Treatment of severe meconium aspiration syndrome with porcine surfactant: a multicentre, randomized, controlled trial. *Acta Paediatr.* Jul 2005;94(7):896-902.
20. Gadzinowski J, Kowalska K, Vidyasagar D. Treatment of MAS with PPHN using combined therapy: SLL, bolus surfactant and iNO. *J Perinatol.* Dec 2008;28 Suppl 3:S56-66.
21. Liu CQ, Ma L, Tang LM, *et al.* [A randomized controlled study on the efficacy of inhaled nitric oxide in treatment of neonates with meconium aspiration syndrome]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* Mar 2008;46(3):224-228.
22. Engel K, Samborska M, Bilar M, *et al.* Sipak-Szmigiel O, Ronin-Walknowska E. [Intrapartum amnioinfusion in patients with meconium-stained amniotic fluid]. *Ginekol Pol.* Sep 2008;79(9):621-624.
23. Choudhary D, Bano I, Ali SM. Does amnioinfusion reduce caesarean section rate in meconium-stained amniotic fluid. *Arch Gynecol Obstet.* Jul;282(1):17-22.
24. Fraser WD, Hofmeyr J, Lede R, *et al.* Amnioinfusion for the prevention of the meconium aspiration syndrome. *N Engl J Med.* Sep 1 2005;353(9):909-917.
25. Zhang E, Hiroma T, Sahashi T, *et al.* Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int.* Jun 2005;47(3):237-241.
26. Mokra D, Drgova A, Mokry J, *et al.* Combination of budesonide and aminophylline diminished acute lung injury in animal model of meconium aspiration syndrome. *J Physiol Pharmacol.* Dec 2008;59 Suppl 6:461-471.
27. Avoine O, Bosse D, Beaudry B, *et al.* Total liquid ventilation efficacy in an ovine model of severe meconium aspiration syndrome. *Crit Care Med.* May;39(5):1097-1103.
28. Rey-Santano C, Mielgo VE, Gastiasoro E, *et al.* Comparative effects of bronchoalveolar lavage with saline, surfactant, or perfluorocarbon in experimental meconium aspiration syndrome. *Pediatr Crit Care Med.* Nov 10.
29. Wang PW, Jeng MJ, Wang LS, *et al.* Surfactant lavage decreases systemic interleukin-1 beta production in meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int.* Jun;52(3):432-437.
30. Salvesen B, Mollnes TE, Saugstad OD. Albumin lavage does not improve the outcome of meconium aspiration syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* Oct 2008;21(10):719-725.
31. Dargaville PA, Copnell B, Tingay DG, *et al.* Refining the method of therapeutic lung lavage in meconium aspiration syndrome. *Neonatology.* 2008;94(3):160-163.
32. Colvero MO, Fiori HH, Fiori RM, *et al.* Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology.* 2008;93(3):188-192.
33. Angert RM, Pilon AL, Chester D, *et al.* CC10 reduces inflammation in meconium aspiration syndrome in newborn piglets. *Pediatr Res.* Dec 2007;62(6):684-688.
34. Jeng MJ, Soong WJ, Lee YS, *et al.* Effects of therapeutic bronchoalveolar lavage and partial liquid ventilation on meconium-aspirated newborn piglets. *Crit Care Med.* Apr 2006;34(4):1099-1105.
35. Calkovska A, Mokra D, Drgova A, *et al.* Bronchoalveolar lavage with pulmonary surfactant/dextran mixture improves meconium clearance and lung functions in experimental meconium aspiration syndrome. *Eur J Pediatr.* Aug 2008;167(8):851-857.

36. Mokra D, Mokry J, Tatarkova Z, *et al*. Aminophylline treatment in meconium-induced acute lung injury in a rabbit model. *J Physiol Pharmacol*. Nov 2007;58 Suppl 5(Pt 1):399-407.
 37. Mokra D, Mokry J, Drgova A, *et al* . Intratracheally administered corticosteroids improve lung function in meconium-instilled rabbits. *J Physiol Pharmacol*. Nov 2007;58 Suppl 5(Pt 1):389-398.
 38. Mokra D, Mokry J, Drgova A, *et al* . Single-dose versus two-dose dexamethasone effects on lung inflammation and airway reactivity in meconium-instilled rabbits. *J Physiol Pharmacol*. Nov 2007;58 Suppl 5(Pt 1):379-387.
 39. Zagariya A, Bhat R, Chari G, *et al* . Apoptosis of airway epithelial cells in response to meconium. *Life Sci*. Mar 4 2005;76(16):1849-1858.
-

CAPÍTULO III
ARTIGO ORIGINAL

Manobra de *Bag Squeezing* em modelo experimental de Síndrome de Aspiração de Mecônio.

***Bag-Squeezing* maneuver in experimental model of meconium aspiration syndrome.**

RESUMO

Introdução: A Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM) é uma doença complexa que pode gerar vários graus de insuficiência respiratória em recém-nascidos. A utilização do lavado bronco alveolar (LBA) com surfactante como terapia vem sendo testada em humanos e em modelos animais obtendo resultados promissores assim como a manobra de Bag-squeezing tem demonstrado bons resultados em adultos

Objetivo: Avaliar os efeitos da associação da manobra de *Bag-Squeezing* com Lavado bronco alveolar com surfactante em modelo experimental de Síndrome de Aspiração de Mecônio em suínos recém-nascidos.

Metodologia: Foram utilizados no estudo suínos recém-nascidos (n=15), ventilados com parâmetros fixos. Após a instilação de 4ml/Kg de mecônio humano diluído a 20% , os suínos foram randomizados em três grupos: Grupo CONTROLE- modelo de SAM submetido somente aspiração (n=5), Grupo LBA-modelo de SAM tratado somente com LBA surfactante(n=5), e o Grupo LBA+BAG-modelo de SAM tratado com LBA com surfactante associado à manobra de *Bag-Squeezing* (n=5). Para o LBA, foi utilizado 15ml/kg de Curosurf® diluído em NaCl (5mg/ml). Gases arteriais, sinais vitais e comportamento da mecânica ventilatória foram analisados ao longo do estudo.

Resultados: O grupo LBA+BAG obteve uma melhora gasométrica e redução da resistência nas vias aéreas (p=0,004) e complacência pulmonar (p=0,003) melhores em relação aos demais grupos, com significativo aumento na quantidade de mecônio removido (p= 0,046) com a manobra de *Bag-squeezing*.

Conclusão: a associação da manobra de *Bag-squeezing* pode trazer benefícios aos parâmetros gasométricos, de mecânica ventilatoria e incrementar a remoção.

Palavras-chave: Aspiração de Mecônio. Modelos experimentais. Fisioterapia respiratória.

ABSTRACT

Introduction: Meconium Aspiration Syndrome (MAS) is a complex disease that can cause varying degrees of respiratory failure in newborns. The use of broncho alveolar lavage (BAL) and surfactant therapy has been tested in humans and in animal models getting promising results as well as Bag-squeezing maneuver has shown good results in adults

Aims: To evaluate the effects of the combination of Bag Squeezing maneuver with broncho-alveolar surfactant in an experimental model of Meconium Aspiration Syndrome in newborn pigs.

Methodology: were used in the study newborn pigs (n = 15), ventilated with fixed parameters. After instillation of human meconium 4ml/Kg diluted to 20%, the pigs were randomized into three groups: CONTROL-SAM model subjected only aspiration (n = 5), Grupo BAL-SAM model treated only with surfactant BAL (n = 5), and Grupo BAL + BAG-SAM model treated with BAL with surfactant associated with Bag Squeezing maneuver (n = 5). For the LBA was used 15ml/kg of Curosurf™ diluted in NaCl (5mg/ml). Blood gases, vital signs and behavior of mechanical ventilation were analyzed throughout the study.

Results: The that group received a BAL + BAG improved blood gas, reduced of airway resistance (p = 0, 004) and compliance lung (p = 0.003) better than the other groups with a significant increase in the amount of meconium removed (p = 0.046) with the *bag-squeezing* maneuver.

Conclusion: The association of *Bag-squeezing* maneuver can bring benefits to gasometric parameters mechanical ventilation and increase the removal of meconium.

Keywords: Meconium Aspiration. Experimental models. Chest physiotherapy

INTRODUÇÃO

O líquido amniótico com evidência de mecônio é observado em 8% a 15% dos recém-nascidos¹⁻³, dos quais 5% desenvolvem Síndrome de Aspiração de Mecônio (SAM)⁴. A SAM pode desencadear angústia respiratória em recém-nascido a termo e pós-termo, tem uma fisiopatologia complexa e não é bem definida⁵. Dentre as crianças que desenvolvem a SAM, mais de 4% morrem, o que representa 2% de todas as mortes perinatais⁶.

O lavado bronco alveolar com surfactante diluído vem sendo usado, nos últimos anos, como medida terapêutica na SAM, e tem mostrado uma tolerância e respostas efetivas, que já foram documentadas em modelos animais⁷⁻¹³ e em recém-nascidos humanos¹⁴⁻¹⁷, destacando-se a evidente melhora nos parâmetros gasométricos e, conseqüente, melhora clínica.

A fisioterapia respiratória e a higiene brônquica podem, idealmente, auxiliar na remoção de uma quantidade maior de mecônio, com resultados positivos sobre os parâmetros gasométricos e ventilatórios, em uma tentativa de maximizar a melhora clínica observada no LBA. Embora existam estudos que se propõem a avaliar procedimentos de fisioterapia respiratória em modelos animais¹⁸⁻²³ não foram encontrados estudos utilizando animais recém-nascidos. Elegemos a manobra de *Bag-squeezing* e mudança de decúbito, entre outras técnicas de fisioterapia respiratória, pela sua viabilidade na prática clínica e a hiperinsuflação manual tem demonstrado bons resultados em adultos.^{24,25}

O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos da Manobra de *Bag-Squeezing* associada ao lavado broncoalveolar com surfactante em um modelo experimental de Síndrome de Aspiração de Mecônio.

METODOLOGIA

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Habilidades Médicas da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Com a aprovação do Comitê de Ética de Pesquisa em Animais (CEUA) da instituição e todos os procedimentos e cuidados com os animais as normas do *Guide for the care and use of laboratory animals*²⁶, seguindo as normas nacionais de pesquisa em animais (lei 11.794).²⁷

Para tanto, foram utilizados 15 suínos recém-nascidos, com menos de 24 horas de vida, originários de um cruzamento entre as raças Large-White e Landrace. Os animais tiveram livre acesso à amamentação logo após o nascimento, foram transportados por pessoal experiente no transporte de animais e mantidos em local aquecido no laboratório, até o momento da experimentação.

Os suínos recém-nascidos foram submetidos à indução anestésica através da administração em “bolus” intramuscular de ketamina e fentanil (0,1mg/Kg/dose) e midazolam (0,05 µg/Kg/dose). Os cordões umbilicais permeáveis permitiram a inserção cateteres umbilicais venoso e arterial, respectivamente, para administração das medicações e NaCl 0,9% e coleta de sangue arterial para a realização da gasometria analisada no aparelho ABL 5 – Radiometer – Copenhagen – Denmark. Para a manutenção da sedação, durante o experimento, as mesmas drogas, diluídas a 20% em NaCl 0,9%, foram administradas por via endovenosa a cada hora, ou quando considerado necessário para manter os animais sedados e analgésicos.

Os animais foram colocados em posição supina, sobre lençol térmico com o objetivo de manter a temperatura corporal entre 38° e 39° Celsius.²⁸ Para a incisão da traqueostomia, administrou-se injeção subcutânea de lidocaína 2% na região cervical anterior e, após a obtenção do acesso a via aérea, foi administrada pancurônio (0,1mg/kg/dose). Foi inserido tubo oro traqueal (TOT de 3 mm), e os animais foram submetidos a ventilação mecânica (BP 200 – Pro-Medico - RJ), limitada por pressão, ciclada a tempo. Foi definida uma frequência respiratória de 40mpm, pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5cmH₂O, pico de pressão inspiratória (PIP) de 20cmH₂O, fluxo de 8l/min, fração inspirada de oxigênio (FiO₂) de 1,0 e tempo inspiratório de 0,4 segundos. Esses parâmetros foram mantidos durante todo o experimento.

O mecônio utilizado para a indução da SAM era proveniente da primeira evacuação de recém-nascidos a termo saudáveis internados na maternidade do Hospital São Lucas da PUCRS (POA/RS). Várias amostras eram coletadas e misturadas para formar o “pool” de mecônio fresco, dentro de 24 horas antes das experimentações, este foi mantido sob refrigeração entre -2°C e 4°C até o seu uso. Considerando o peso total do mecônio coletado, este foi homogeneizado a uma concentração 20% de NaCl a 0,9% momentos antes da instilação. O mecônio foi instilado numa concentração de 5ml/kg, em alíquota única, aos pulmões via endotraqueal, através de uma seringa conectada ao tubo endotraqueal, em cerca de 30 segundos, de acordo com a técnica descrita por Wiswell *et al.*,²⁹ estando os suínos na posição supina. Este modelo de lesão pulmonar foi utilizado, anteriormente, em outros estudos³⁰⁻³² e tem se estabelecido como um modelo de SAM confiável.

A indução da SAM foi avaliada através de gasometria arterial 30 minutos após a instilação de mecônio e, caso a PaO₂ apresentasse valores superiores a 100 mmHg, era considerada falha da indução e administrada uma dose adicional de mecônio (2,5ml/kg). A

viscosidade do mecônio foi avaliada através de viscosímetro rotacional portátil (VC-VP-1000 – Labometric LLC – Miami US), utilizando um *spindle* R3, antes da instilação na via aérea, a fim de analisar a viscosidade do mecônio infundido em cada dia do experimento e determinar a homogeneidade das amostras ao longo do estudo.

Após a comprovação da indução da SAM, os suínos foram randomizados, mediante sorteio em três grupos:

Grupo CONTROLE: grupo de SAM CONTROLE, submetido somente a aspiração.

Grupo LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante.

Grupo LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado à Manobra de *Bag-Squeezing* e mudança de decúbito.

Protocolo de intervenção

Para o lavado broncoalveolar com surfactante (LBA), foi utilizado surfactante porcino artificial (Curosurf™, Chiesi Farmaceutici SpA, Parma, Italy), foi diluído em NaCl numa concentração de 5mg/ml e a volume administrado de 15ml/kg através do tubo endotraqueal, em alíquotas de 2ml/kg. No grupo LBA, o lavado foi instilado em alíquotas de 2ml/Kg, via tubo endotraqueal, administradas na posição supina. Na sequência, os animais do grupo LBA foram conectados a ventilação mecânica, realizando 3 ciclos respiratórios completos e o fluido removido mediante aspiração traqueal, usando cateter de aspiração traqueal (0,8-Fr), em 4 repetições, com pressão negativa de 100 cmH₂O, durante um período de 10-15 segundos, conectado a um sistema de ar comprimido.

A manobra de *Bag-Squeezing* consistiu de hiperinsuflações manuais, utilizando um balão auto-inflável (Ambú™), acoplado a cânula endotraqueal, onde procedia-se com uma insuflação, comprimindo lentamente o ressuscitador até a metade do volume, com uma pausa inspiratória (3-5 segundos)³³. Após a pausa o balão autoinflável, era comprimido até o final, seguido de uma descompressão rápida, caracterizando a fase expiração, quando então outro fisioterapeuta procedia com a vibrocompressão torácica³⁴. Após uma sequência de três repetições, o procedimento era finalizado com a aspiração da cânula endotraqueal.

O protocolo de estudo, ao qual o grupo LBA+BAG foi submetido, consistiu em associar a manobra de *Bag-Squeezing* ao LBA na sequência descrita: para cada suíno, foi feito o cálculo do total necessário de surfactante diluído, para o lavado (na proporção de 15ml/kg), e o volume total necessário foi dividido, a afim de que as alíquotas fossem

administradas igualmente nos quatro decúbitos (prono, supino e lateral direito e esquerdo), havendo excedente do volume correspondente, era administrado na posição supino. Para a administração do LBA, o suíno era desconectado da ventilação mecânica e, após a administração da alíquota prevista para aquele decúbito, o suíno era acoplado ao ressuscitador (Ambú™), via endotraqueal, para que a manobra substituísse os ciclos respiratórios que seriam realizados no LBA convencional pelo ventilador mecânico. Foram feitas cinco repetições da manobra de *Bag-Squeezing* após a instilação de cada alíquota de surfactante diluído (2ml/kg) e, posteriormente, realizado o procedimento de aspiração traqueal.

Durante o período de estudo, foram monitorados e coletados os dados de: pressão arterial de oxigênio (PO₂), pressão arterial de dióxido de carbono (PCO₂), potencial de hidrogênio (PH), índice de oxigenação, da mecânica respiratória e sinais vitais (saturação, frequência cardíaca e temperatura). Esses parâmetros foram analisados em quatro intervalos de tempo que são descritos abaixo.

T1: medida basal, realizada 5 minutos após a estabilização do animal,

T2: medida realizada 30 minutos após a indução de SAM

T3: medida realizada 30 minutos após a realização da intervenção proposta para cada grupo,

T4: medida realizada 60 minutos após a realização da intervenção proposta para cada grupo.

O índice de oxigenação foi obtido pelo cálculo de fórmula: $(IO = \text{pressão média da via aérea} \times FiO_2 \times 100 / PaO_2)$. A pressão média da via aérea (cmH₂O), em cada medida, foi avaliada pela moda (Mo) definida como o valor de maior frequência, no intervalo de tempo da medida um minuto, segundo os valores obtidos através de pneumotacógrafo (Hans Rudolph HSS 100). As medidas de resistência das vias aéreas (cm H₂O/L/S) e a complacência pulmonar (ml/cm H₂O) foram obtidas pelo pneumotacógrafo (Hans Rudolph HSS 100). Os parâmetros foram novamente avaliados, após a intervenção, mensurados em intervalos de 30 minutos (T3 e T4), completando um total de uma hora de acompanhamento.

O volume total recuperado de cada suíno do grupo LBA e LBA+BAG, após a aspiração, foi mensurado em volume (ml) num frasco coletor adaptado ao cateter de

aspiração. Uma porção do conteúdo líquido foi coletada e armazenada em um pequeno tubo de ensaio, o qual foi centrifugado por 10 minutos, após os quais foi procedida a medida (cm) do ponto máximo e do ponto mínimo do material sólido, e considerada a média desses valores para avaliar a quantidade recuperada.

Ao término do experimento, os animais ainda sob efeito da anestesia foram submetidos à eutanásia com injeção intra-cardíaca de 3-5 ml de tiopental.

Análise estatística

Para detectar uma diferença de efeito na quantidade de mecônio aspirado 50% maior nos modelos experimentais que receberam a manobra de *Bag-squeezing* em relação aos outros grupos, igual a 1,5 desvios-padrão, para uma probabilidade de erro tipo I (α) de 0,05 e poder de 90%, foi calculado um tamanho de amostra mínimo de 10 animais por grupo. A fim de evitar o uso desnecessário de animais, foi prevista a abertura dos resultados na metade do estudo, ou seja, quando atingidos cinco animais por grupo.

As variáveis foram expressas como média e desvio-padrão. Para a comparação entre os tratamentos, considerando todo o período de estudo, empregou-se a análise de variância ANOVA, seguida de teste post-hoc pelo modo de Bonferroni. Os dados foram analisados usando os softwares EpiInfo versão 3.5.1 e o SPSS versão 17.0.

RESULTADOS

Foram utilizados quinze porcos recém-nascidos randomizados, ficando cinco em cada grupo. Nenhum animal foi excluído da análise e todos desenvolveram a doença e concluíram os experimentos previstos. Seis suínos precisaram de dose adicional de mecônio, sendo dois no grupo CONTROLE, um no grupo LBA e três no grupo LBA+BAG.

Todos os animais tinham até 24 horas de vida no momento do procedimento e não apresentaram diferença quanto ao peso sendo $p= 0,5917$. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na viscosidade do mecônio instilado para a indução da SAM, medida realizada após a diluição em NaCl 0,9%, segundo o protocolo do estudo. A média da viscosidade foi $306,25 \pm 35,44$ mPa

Os grupos não apresentaram diferença quanto ao perfil gasométrico antes da intervenção (**Tabela 1**).

Tabela1: Análise dos dados gasométricos nos diferentes grupos, antes e depois da instilação de mecônio nas vias aéreas e intervenção terapêutica.

VARIÁVEIS	GRUPO CONTROLE n=5	GRUPO LBA n=5	GRUPO LBA+BAG n=5	p
PaO₂ mmHg				
Antes da instilação de mecônio	313,4± 50,67	238,6± 161,79	334,8 ± 66,33	0,348
30 min. após a instilação de mecônio	66,2±26,95	55± 6,24	54,4±34,40	0,719
30 min. Após a intervenção	99,40±45,20 ^a	118,80±67,65 ^{ab}	211,20±70,74 ^b	0,032*
60 min. Após a intervenção	76,20±8,78	136,20±,74,19	174,00±91,99	0,116
PaCO₂mmHg				
Antes da instilação de mecônio	22,2±5,07	19,2 ± 13,85	22,4± 8,62	0,850
30 min. após a instilação de mecônio	69,8± 30,69	49,2±7,12	55,4 ± 41,33	0,554
30 min. Após a intervenção	49,00± 7,44	52,00±24,21	31,40±7,50	0,111
60 min. Após a intervenção	55,20±13,91 ^a	45,40±12,83 ^{ab}	30,00±7,07 ^b	0,016*
pH				
Antes da instilação de mecônio	7,62±0,11	6,028 ± 3,37	7,548± 0,12	0,376
30 min. após a instilação de mecônio	7,21±0,16	7,264± 0,11	5,784 ± 3,24	0,394
30 min. Após a intervenção	7,2460±0,05 ^a	7,3200±0,16 ^{ab}	7,4680±0,07 ^b	0,021*
60 min. Após a intervenção	7,21±0,10 ^a	7,3150±0,20 ^{ab}	7,4780±0,05 ^b	0,024*

Definição das abreviações: n=número de animais, GRUPO CONTROLE: grupo de SAM CONTROLE, submetido somente a aspiração; GRUPO LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante; GRUPO LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado à Manobra de *Bag-Squeezing*. pH=potencial de hidrogênio, PaO₂= Pressão parcial arterial de oxigênio; PaCO₂= pressão parcial arterial de dióxido de carbono. Dados são expressos em média±desvio padrão. *Quando existe significância estatística entre os grupos. Letras *a* e *b* se não-coincidentes indicam diferenças estatisticamente significativa

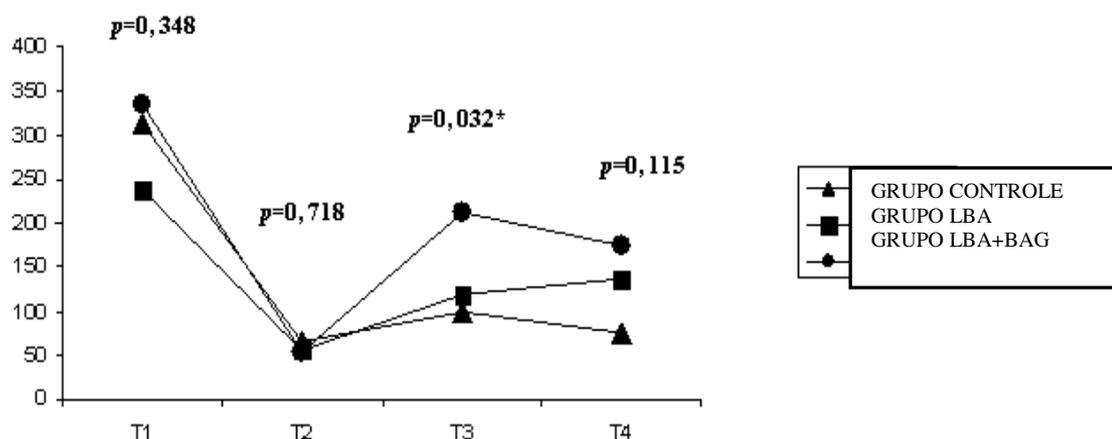


Figura 1: Variação da Pressão parcial arterial de Oxigênio (PaO₂ -mmHg) dos diferentes grupos ao longo do experimento.

Definição das abreviações: GRUPO CONTROLE: grupo de SAM CONTROLE, submetido somente a aspiração; GRUPO LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante; GRUPO LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado à Manobra de *Bag-Squeezing* T1- medida basal, realizada 5 minutos após a estabilização do animal; T2- medida realizada 30 minutos após a indução de SAM.; T3- medida realizada 30 minutos após a realização da intervenção proposta para cada grupo; T4- medida realizada 60 minutos após a realização da intervenção proposta para cada grupo. Os resultados são expressos em média, entre os grupos. * Quando existe significância estatística entre os grupos.

Quando analisados os parâmetros de mecânica pulmonar, observamos diferenças estatisticamente significativas entre os 3 grupos após a intervenção proposta, conforme apresentado na **Tabela 2**.

Tabela 2: Comportamento da complacência pulmonar e da resistência das vias aéreas entre os grupos ao longo do estudo.

VARIÁVEIS	GRUPO CONTROLE n=5	GRUPO LBA n=5	GRUPO LBA+BAG n=5	p
Complacência Pulmonar (ml/cm H₂O)				
Antes da instilação de mecônio	1,66±0,57	2,18±0,51	1,84±0,41	0,293
30 min. Após a instilação de mecônio	0,66±0,38	0,58±0,17	0,56±0,11	0,808
30 min. Após a intervenção	0,70±0,23 ^a	0,78±0,19 ^b	1,22±0,22 ^{ab}	0,005*
60 minutos após a intervenção	0,62±0,29 ^a	0,82±0,19 ^a	1,30±0,27 ^{ab}	0,003*
Resistência das vias aéreas (cm H₂O/L/S)				
Antes da instilação de mecônio	177,60±40,67	172,20±30,40	178,00±33,99	0,959
30 min. Após a instilação de mecônio	456,60±134,03	444,00±152,18	466,20±83,36	0,962
30 min. Após a intervenção	321,80±78,86 ^a	264,60±39,65 ^{ab}	221,40±45,15 ^b	0,051
60 minutos após a intervenção	434,40±132,76 ^{ab}	266,60±49,78 ^a	218,80±32,73 ^b	0,004*

Definição das abreviações: n=número de animais, GRUPO CONTROLE: grupo de SAM CONTROLE, submetido somente a aspiração; GRUPO LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante; GRUPO LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado à Manobra de *Bag-Squeezing*. Dados são expressos em média±desvio padrão.

*Quando existe significância estatística entre os grupos. Letras *a* e *b* se não-coincidentes indicam diferenças estatisticamente significativa.

Quando consideramos o volume de mecônio aspirado em relação ao volume instilado (ml) para induzir a SAM, observamos que foi aspirado uma proporção maior de mecônio no Grupo LBA+BAG que recebeu a manobra de *Bag-Squeezing* 8,6760±3,6797 em relação ao grupo que recebeu somente o LBA: 6,5440±2,3018, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa (p = 0,3040).

Após a centrifugação do fluído, as alturas médias dos centrifugados de mecônio foram de 0,52±0,16 e 0,97±0,49, respectivamente, para o grupo LBA e LBA+BAG em que (p= 0,046). O conteúdo aspirado no grupo CONTROLE não foi centrifugado, porque em nenhum dos animais foi obtido um volume aspirado superior a 0,5 ml.

Quanto ao índice de oxigenação, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Trinta minutos após a intervenção terapêutica o IO apresentou os seguintes resultados: Grupo CONTROLE 9,5520±3,8411, Grupo LBA 8,4040 ± 4,4270 e no Grupo LBA+BAG 3,9800 ± 1,4307, (p=0,0608). Na avaliação, 60 minutos após a intervenção, o Grupo CONTROLE apresentou índice de oxigenação de 10,9±2,4, o Grupo LBA 7,77 ±3,7 e o Grupo LBA+BAG 7,04 ± 4,47 sendo p=0,2367.

DISCUSSÃO

Este estudo comparou dois modos de intervenção terapêutica em um modelo experimental de SAM submetidos a LBA e LBA+BAG respectivamente, demonstrando resultados favoráveis a favor do grupo LBA+BAG, quanto aos parâmetros gasométricos, mecânica ventilatória, ao longo do experimento, e quantidade de mecônio removida após a intervenção.

A melhora da mecânica ventilatória a favor do grupo LBA+BAG pode estar relacionada a dois aspectos: ao recrutamento de áreas hipoventiladas pela manobra de *Bag-squeezing* e à remoção de uma quantidade maior de mecônio. Evidências de estudos anteriores sugerem que a hiperinsuflação manual, utilizada na manobra de *Bag squeezing*, pode mobilizar secreções pulmonares, reverter as atelectasias alveolares e aumentar a oxigenação alveolar. Muitos estudos clínicos têm relatado os benefícios, a curto prazo, da Hiperinsuflação Manual (HM) na depuração de secreções^{35, 36}, reexpansão de atelectasias,^{36, 37} melhora da complacência dinâmica,³⁸ e oxigenação^{39, 40}.

A associação da manobra de *Bag-squeezing* associada ao LBA, neste estudo, pode, portanto, ter conduzido a desobstrução das vias aéreas e a melhora da ventilação, reduzindo, assim, a resistência das vias aéreas e melhorando a complacência pulmonar, ao contrário do grupo que recebeu somente LBA e do grupo CONTROLE, submetido somente a aspiração traqueal. Nesses últimos, observou-se o agravamento da oxigenação e manutenção de baixa complacência pulmonar e alta resistência das vias aéreas após a indução da SAM.

A associação da manobra de *Bag-Squeezing* ao LBA, como proposta de tratamento na SAM, em modelo animal, utilizando coelhos adultos, foi investigada anteriormente²³, com resultados que convergem com aqueles encontrados neste estudo que utilizou o mesmo tipo de ressuscitador manual e executou manobras semelhantes com a inclusão da vibração durante a compressão torácica. Porém, os resultados foram discordantes quanto ao índice de oxigenação, que teve melhora significativa, no estudo realizado com coelhos, enquanto, em nosso modelo experimental, utilizando suínos recém-nascidos, o grupo LBA +BAG teve resultados melhores, porém à margem da significância estatística. Quanto a PaO₂, ambos os estudos demonstram diferença estatisticamente significativa a favor do grupo que recebeu LBA e *Bag-squeezing*.

Embora a complacência e a resistência pulmonar tenham apresentado melhores resultados a favor do grupo LAB+BAG, a PaO₂ obtida após a intervenção não foi sustentada

ao longo do experimento. É possível inferir, através desses resultados, que uma quantidade maior de surfactante tenha sido removido nos animais do grupo LBA+BAG, tanto o surfactante intrínseco como o utilizado no LBA, uma vez que a depuração bronquial promovida pela manobra de *Bag-Squeezing* mobiliza porções sólidas e líquidas das secreções pulmonares. Considerando o surfactante como responsável pela manutenção da estabilidade alveolar e uma possível remoção em quantidade superior após LBA e a manobra de *Bag-Squeezing* associada, uma dose de surfactante adicional poderia ser considerada como estratégia de tratamento.

A comparação de três diferentes técnicas de aspiração traqueal: aspiração fechada, aspiração aberta e aspiração aberta associada à manobra de vibrocompressão torácica, realizadas sucessivamente⁴¹ apresentou PaO₂, com diferença estatisticamente significativa, ao longo do estudo, em favor do grupo que receberam vibrocompressão torácica. Apresentou, ainda, um acréscimo significativo na quantidade de mecônio removido no grupo que recebeu a vibrocompressão⁴¹.

Esses resultados convergem com nossos resultados, em que a remoção de mecônio foi mais evidente no modelo que recebeu a manobra de *Bag Squeezing* e divergem quanto à alíquota de surfactante utilizada para o LBA, uma vez que no presente estudo foi possível retirar uma quantidade superior de mecônio, utilizando uma alíquota menor de surfactante no LBA. Embora apresentem resultados convergentes é preciso considerar algumas diferenças entre os dois estudos, uma vez que o presente estudo se propôs a avaliar a eficácia de técnicas de fisioterapia respiratória e não somente as técnicas de aspiração traqueal.

Essa diferença torna-se evidente quando consideramos que, no estudo aqui apresentado, a manobra de vibração foi realizada durante a fase expiratória da hiperinsuflação, conforme descrito na literatura³⁴. Enquanto, no estudo citado, os métodos de aspiração foram realizados em sequência, e a vibrocompressão torácica foi realizada durante o procedimento de aspiração.

Alterações hemodinâmicas foram relatadas em um estudo¹⁸ que avaliou a aplicação da manobra de hiperinsuflação manual em ovelhas adultas saudáveis demonstrando significativas alterações hemodinâmicas, entre elas a diminuição do débito cardíaco com vasoconstrição compensatória evidente pelo aumento resistência vascular sistêmica e pressão arterial média arterial média.¹⁸. Apesar de não terem sido avaliadas, no presente estudo, medidas de segurança em relação à pressão e ao volume corrente ofertados durante a manobra de *Bag-squeezing*, esta foi realizada com um ressuscitador próprio para o uso em recém-

nascidos humanos, com um volume máximo de ventilação de 300 ml e que não permite atingir pressões superiores a 30 mmHg. Ainda assim, é necessário considerar a possibilidade de repercussões hemodinâmicas durante a aplicação da técnica, que não foram avaliadas nesse estudo.

É necessário considerar algumas limitações durante a realização deste estudo, como por exemplo, o curto período de tempo de observação após a intervenção, (60 minutos), quando comparado a outro estudo²³ que realizou acompanhamento durante 3 horas após a intervenção. Apesar disso, julgamos o período de observação adequado para a obtenção de respostas imediatas da intervenção proposta. Não foi possível medir a quantidade de surfactante retirado junto com o mecônio na aspiração, nem mesmo incluir, neste estudo, a avaliação de parâmetros de segurança do procedimento, tais como: mensuração da pressão intracraniana, pressão exercida pelo ressuscitador nas vias aéreas e variáveis hemodinâmicas, devido a limitações técnicas no momento da realização deste trabalho.

Este estudo sugere que, a associação da manobra de *Bag-squeezing* associada ao LBA com surfactante diluído, aumentam a remoção de mecônio e associa-se com melhora clínica em modelo experimental de SAM em suínos recém-nascidos. Não foram encontrados outros estudos que utilizassem vibração ou vibrocompressão torácica associadas com LBA avaliando a complacência e a resistência pulmonar como desfechos, ou apresentando valores de pH. Também não foram encontrados estudos associando técnicas de fisioterapia respiratória utilizando animais recém-nascidos.

Devido a isso, novos estudos experimentais utilizando esse modelo necessitam ser realizados, comparando as diversas modalidades de tratamento propostos, com período de observação mais longo e inclusão de doses adicionais de surfactante, além da mensuração de medidas de segurança, tais como: variação da pressão intracraniana ao longo do experimento, análise da pressão exercida pelo ressuscitador nas vias aéreas, e os efeitos hemodinâmicos da manobra de *Bag-squeezing*.

REFERÊNCIAS

1. Wiswell TE, Peabody SS, Davis JM, Slayter MV, Bent RC, Merritt TA. Surfactant therapy and high-frequency jet ventilation in the management of a piglet model of the meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. Oct 1994;36(4):494-500.
2. Keenan WJ. Recommendations for management of the child born through meconium-stained amniotic fluid. *Pediatrics*. Jan 2004;113(1 Pt 1):133-134.
3. Bhutani VK. Developing a systems approach to prevent meconium aspiration syndrome: lessons learned from multinational studies. *J Perinatol*. Dec 2008;28 Suppl 3:S30-35.
4. Espinheira MC, Grilo M, Rocha G, Guedes B, Guimaraes H. Meconium aspiration syndrome - the experience of a tertiary center. *Rev Port Pneumol*. Mar-Apr;17(2):71-76.
5. Cleary GM, Wiswell TE. Meconium-stained amniotic fluid and the meconium aspiration syndrome. An update. *Pediatr Clin North Am*. Jun 1998;45(3):511-529.
6. Fanaroff AA. Meconium aspiration syndrome: historical aspects. *J Perinatol*. Dec 2008;28 Suppl 3:S3-7.
7. Jeng MJ, Soong WJ, Lee YS, et al. Effects of therapeutic bronchoalveolar lavage and partial liquid ventilation on meconium-aspirated newborn piglets. *Crit Care Med*. Apr 2006;34(4):1099-1105.
8. Marraro G, Bonati M, Ferrari A, et al. Perfluorocarbon broncho-alveolar lavage and liquid ventilation versus saline broncho-alveolar lavage in adult guinea pig experimental model of meconium inhalation. *Intensive Care Med*. May 1998;24(5):501-508.
9. Paranka MS, Walsh WF, Stancombe BB. Surfactant lavage in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. Jun 1992;31(6):625-628.
10. Cochrane CG, Revak SD, Merritt TA, et al. Bronchoalveolar lavage with KL4-surfactant in models of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. Nov 1998;44(5):705-715.
11. Lam BC, Yeung CY, Fu KH, Wong KY, Chan FL, Tsoi NS. Surfactant tracheobronchial lavage for the management of a rabbit model of meconium aspiration syndrome. *Biol Neonate*. 2000;78(2):129-138.
12. Dargaville PA, Mills JF, Headley BM, et al. Therapeutic lung lavage in the piglet model of meconium aspiration syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. Aug 15 2003;168(4):456-463.
13. Ohama Y, Ogawa Y. Treatment of meconium aspiration syndrome with surfactant lavage in an experimental rabbit model. *Pediatr Pulmonol*. Jul 1999;28(1):18-23.
14. Lejeune T, Pfister RE. Surfactant lavage for extracorporeal membrane oxygenation-requiring meconium aspiration syndrome--a cheap alternative. *Eur J Pediatr*. May 2005;164(5):331-333.
15. Lam BC, Yeung CY. Surfactant lavage for meconium aspiration syndrome: a pilot study. *Pediatrics*. May 1999;103(5 Pt 1):1014-1018.
16. Wiswell TE, Knight GR, Finer NN, et al. A multicenter, randomized, controlled trial comparing Surfaxin (Lucinactant) lavage with standard care for treatment of meconium aspiration syndrome. *Pediatrics*. Jun 2002;109(6):1081-1087.
17. Lista G, Bianchi S, Castoldi F, Fontana P, Caviglioli F. Bronchoalveolar lavage with diluted porcine surfactant in mechanically ventilated term infants with meconium aspiration syndrome. *Clin Drug Investig*. 2006;26(1):13-19.
18. Anning L, Paratz J, Wong WP, Wilson K. Effect of manual hyperinflation on haemodynamics in an animal model. *Physiother Res Int*. 2003;8(3):155-163.

19. Wong WP, Paratz JD, Wilson K, Burns YR. Hemodynamic and ventilatory effects of manual respiratory physiotherapy techniques of chest clapping, vibration, and shaking in an animal model. *J Appl Physiol*. Sep 2003;95(3):991-998.
20. Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression and/or prone position on oxygenation and ventilation in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care*. Aug 2003;48(8):754-762.
21. Unoki T, Mizutani T, Toyooka H. Effects of expiratory rib cage compression combined with endotracheal suctioning on gas exchange in mechanically ventilated rabbits with induced atelectasis. *Respir Care*. Aug 2004;49(8):896-901.
22. Zidulka A, Chrome JF, Wight DW, Burnett S, Bonnier L, Fraser R. Clapping or percussion causes atelectasis in dogs and influences gas exchange. *J Appl Physiol*. Jun 1989;66(6):2833-2838.
23. Zhang E, Hiroma T, Sahashi T, Taki A, Yoda T, Nakamura T. Airway lavage with exogenous surfactant in an animal model of meconium aspiration syndrome. *Pediatr Int*. Jun 2005;47(3):237-241.
24. Ahmed F, Shafeeq AM, Moiz JA, Geelani MA. Comparison of effects of manual versus ventilator hyperinflation on respiratory compliance and arterial blood gases in patients undergoing mitral valve replacement. *Heart Lung*. Sep-Oct;39(5):437-443.
25. Choi JS, Jones AY. Effects of manual hyperinflation and suctioning in respiratory mechanics in mechanically ventilated patients with ventilator-associated pneumonia. *Aust J Physiother*. 2005;51(1):25-30.
26. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Research Council. 2010; ISBN: 0-309-15401-4, 248 pages, 6 x 9, (2010).
27. União DOd. Brasil. Lei 11.794/08 Procedimentos para o Uso Científico de Animais. . 2008
28. Ferreira R CJ, Mendonça P, Melo T, Cordeiro M, Soares R. . Comportamento e Parâmetros fisiológicos de leitões nas primeiras 24 horas de vida. *Cienc Agrotec Lavras*. 2007;31(6):1845-9.
29. Wiswell TE PS, Davis JM, Slayter MV, Bent RC, Merritt TA. Surfactant therapy and high-frequency jet ventilation in the management of a piglet model of the meconium aspiration syndrome. *Pediatr Res*. 1994;36(4): 494-500.
30. Diniz EMAF, R. M. . Curosurf Therapy in Severe Meconium aspiration. *Biology of the Neonate*. 1995;v. 67, n. 1, p. 86-86, 1995.
31. Colvero MO, Fiori HH, Fiori RM, et al. Bronchoalveolar lavage plus surfactant in a piglet model of meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;93(3):188-192.
32. Tessler R, Wu S, Fiori R, Macgowan CK, Belik J. Sildenafil acutely reverses the hypoxic pulmonary vasoconstriction response of the newborn pig. *Pediatr Res*. Sep 2008;64(3):251-255.
33. Maa SH HT, Hsu KH, et al. Manual hiperinflation improves alveolar recruitment in difficult-to-wean patients. *Chest*. 2005;128:2741-2721.
34. Nicolau CM FM. Efeitos da fisioterapia respiratória em recém-nascidos: análise crítica da literatura. *Rev Paul Ped* 2007;25 (1) 72-5.
35. Berney S, Denehy L. A comparison of the effects of manual and ventilator hyperinflation on static lung compliance and sputum production in intubated and ventilated intensive care patients. *Physiother Res Int*. 2002;7(2):100-108.
36. Hodgson C, Denehy L, Ntoumenopoulos G, Santamaria J, Carroll S. An investigation of the early effects of manual lung hyperinflation in critically ill patients. *Anaesth Intensive Care*. Jun 2000;28(3):255-261.

37. Stiller K, Geake T, Taylor J, Grant R, Hall B. Acute lobar atelectasis. A comparison of two chest physiotherapy regimens. *Chest*. Dec 1990;98(6):1336-1340.
 38. Barker M, Adams S. An evaluation of a single chest physiotherapy treatment on mechanically ventilated patients with acute lung injury. *Physiother Res Int*. 2002;7(3):157-169.
 39. Patman S, Jenkins S, Stiller K. Manual hyperinflation--effects on respiratory parameters. *Physiother Res Int*. 2000;5(3):157-171.
 40. Tweed WA, Phua WT, Chong KY, Lim E, Lee TL. Tidal volume, lung hyperinflation and arterial oxygenation during general anaesthesia. *Anaesth Intensive Care*. Dec 1993;21(6):806-810.
 41. Dargaville PA, Copnell B, Tingay DG, Gordon MJ, Mills JF, Morley CJ. Refining the method of therapeutic lung lavage in meconium aspiration syndrome. *Neonatology*. 2008;94(3):160-163.
-

CAPÍTULO IV
CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

A associação da manobra de *Bag-Squeezing* ao lavado broncoalveolar (LBA) com surfactante diluído em um modelo experimental de Síndrome de aspiração de mecônio (SAM) em suínos recém-nascidos apresentou benefícios adicionais ao LBA aplicado de forma isolada, com resultados favoráveis sobre a quantidade de mecônio removida e sobre os parâmetros gasométricos e de mecânica ventilatória 60 minutos após a intervenção.

Considerando uma possível remoção de surfactante intrínseco em quantidade superior após a realização do LBA associado à manobra de *Bag-Squeezing*, e sua repercussão sobre a oxigenação, novos estudos incluindo uma dose de surfactante adicional devem ser realizados.

As medidas de segurança tais como variação da pressão intracraniana, a análise da pressão exercida pelo ressuscitador nas vias aéreas e os efeitos hemodinâmicos da manobra de *Bag-squeezing* necessitam ser melhor esclarecidos, em novos estudos utilizando modelo experimental de Síndrome de aspiração de mecônio (SAM) em suínos recém-nascidos.

ANEXOS

Tabela 1- Dados complementares obtidos ao longo do experimento.

VARIÁVEIS	GRUPO CONTROLE n=5	GRUPO LBA n=5	GRUPO LBA+BAG n=5	p
Peso (gramas)	1630 ± 109,54	1700 ± 322,10	1770 ± 315,44	0,5917
Frequência cardíaca (bpm)				
Antes da instilação de mecônio	140,8±27,56	165,4 ± 11,06	147,2 ±13,72	0,1445
30 min. Após a instilação de mecônio	143±27,19	132,6±13,15	129,2 ± 27,73	0,6421
30 min. Após a intervenção	126,40± 16,34	127,00 ± 16,55	133,00 ± 11,59	0,7493
60 minutos após a intervenção	137,60± 65,12	133,40 ± 23,59	134,20± 16,26	0,9854
Temperatura (°C)				
Antes da instilação de mecônio	36,9±0,89	36,42 ± 1,29	36,16 ± 1,05	0,5659
30 min. Após a instilação	37,08±1,47	36,6± 0,97	36,76 ± 1,51	0,8484
30 min. Após a intervenção	37,52 ± 1,39	37,28 ±0,88	37,42 ± 1,57	0,959
60 minutos após a intervenção	38,44 ± 2,51	37,60 ± 1,20	37,24 ± 1,78	0,6083
Saturação				
Antes da instilação de mecônio	100±0,00	100±0,00	100±0,00	
30 min. Após a instilação	76,2±15,19	84,8 ± 4,76	84,2 ± 11,88	0,4413
30 min. Após a intervenção	91,40 ± 5,366	94,60 ± 9,91	100,00±0,00	0,1502
60 minutos após a intervenção	90,00±3,80	96,20 ±4,81	100,00 ±0,00	0,0026*

Definição das abreviações: n=número de animais, GRUPO CONTROLE: grupo de SAM controle, submetido somente a aspiração; GRUPO LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante; GRUPO LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado a Manobra de Bag-Squeezing. Dados são expressos em média±desvio padrão. *Existe significância estatística entre os grupos.

Tabela 2- Características do mecônio utilizado para indução da SAM, por grupo

VARIÁVEIS	GRUPO CONTROLE n=5	GRUPO LBA n=5	GRUPO LBA+BAG n=5	p
Porcos com dose adicional (n)	2	1	3	
Dose adicional (ml)	4,00±0,00	3,25±0,00	4,26±,652	0,3787
Mecônio utilizado para indução (ml)	8,10±0,57	8,38±1,57	8,85±1,57	0,6744
Mecônio utilizado indução (total em mL)	9,90±2,33	9,03±1,23	11,41±2,70	0,2573

Definição das abreviações: n=número de animais, GRUPO CONTROLE: grupo de SAM controle, submetido somente a aspiração; GRUPO LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante; GRUPO LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado a Manobra de Bag-Squeezing. Dados são expressos em média±desvio padrão.

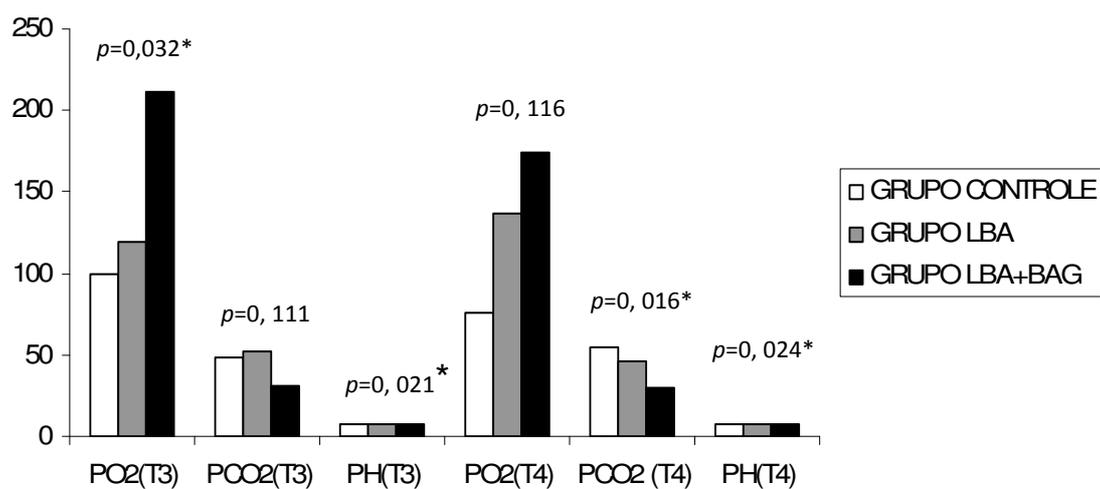


Figura 1: Perfil das variáveis gasométricas entre os grupos nos intervalos de medida após a intervenção terapêutica

Definição das abreviações:, GRUPO CONTROLE: grupo de SAM controle, submetido somente a aspiração; GRUPO LBA: grupo SAM submetido a LBA com surfactante; GRUPO LBA+BAG: grupo de SAM submetido a LBA associado a Manobra de Bag-Squeezing. pH=potencial de hidrogênio, PaO2= Pressão parcial arterial de oxigênio; PaCO2= pressão parcial arterial de dióxido de carbono. Dados são expressos em média, *existe significância estatística.

