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

GEOVANA RHODEN ESTORGATO

**TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS NOS FLUIDOS ORAL E GÁSTRICO PARA PREDIÇÃO DA
TAQUIPNÉIA TRANSITÓRIA DO RECÉM-NASCIDO EM NEONATOS A TERMO SUBMETIDOS À
CESARIANA ELETIVA**

**PORTO ALEGRE
2014**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL – PUCRS

FACULDADE DE MEDICINA

PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS NOS FLUIDOS ORAL E GÁSTRICO
PARA PREDIÇÃO DA TAQUIPNÉIA TRANSITÓRIA DO RECÉM-NASCIDO EM
NEONATOS A TERMO SUBMETIDOS À CESARIANA ELETIVA**

GEOVANA RHODEN ESTORGATO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina /Pediatría e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori

Porto Alegre, 2014.

DADOS DE CATALOGAÇÃO

E81t Estorgato, Geovana Rhoden

Teste das microbolhas estáveis nos fluidos oral e gástrico para predição da taquipnéia transitória do recém-nascido em neonatos a termo submetidos à cesariana eletiva / Geovana Rhoden Estorgato. Porto Alegre: PUCRS, 2014.

53 f.: il. tab. Inclui artigo encaminhado para publicação.

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Pediatria e Saúde da Criança.

1. MICROBOLHAS. 2. SURFACTANTES PULMONARES. 3. TAQUIPNÉIA TRANSITÓRIA DO RECÉM-NASCIDO. I. Fiori, Renato Machado. II. Título.

CDD 618.9201

CDU 616-053.31(043.3)

NLM WS 420

DEDICATÓRIA

Segundo Albert Einstein “A mente que se abre a uma nova ideia jamais volta ao seu tamanho original.” Dedico este estudo aos meus pais Ari e Liane e a minha irmã Bruna. Aos familiares e amigos que estiveram ao meu lado me apoiando. Às pessoas que se dedicam a busca de novas descobertas científicas. E, principalmente, ao meu orientador Prof. Dr. Renato Macho Fiori.

AGRADECIMENTOS

Ao **Dr. Renato Machado Fiori**, por ter aceitado ser meu orientador com o semestre já em andamento, me oportunizando um lugar no seu grupo de pesquisa. Agradeço por ter dividido comigo todo o seu conhecimento e vivência no mundo da pesquisa, pela disponibilidade e dedicação:

Ao **Dr. Humberto Holmer Fiori**, pela dedicação, apoio e auxílio na produção deste estudo.

Ao **Dr. Manoel Ribeiro**, pelo apoio, incentivo e disponibilidade para a análise das amostras deste estudo.

Ao **Dr. Davi de Paula**, pelo esforço, dedicação e empenho, que foram fundamentais para a realização deste estudo. Agradeço pela parceria e por incentivar a realização desta pesquisa no Hospital da Unimed em Novo Hamburgo.

A **Dra Rita Mattiello** pelo profissionalismo, apoio e parceria durante todo o mestrado.

As **Equipes da Unidade de Terapia Intensiva Neonatal e do Centro Obstétrico do HSL-PUCRS** (corpo clínico, residentes, enfermeiros, técnicos de enfermagem), pelo apoio durante a coleta das amostras e pela disponibilidade de espaço para a análise das amostras.

A **Equipe do Centro Obstétrico do Hospital da Unimed de Novo Hamburgo** (corpo clínico, enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem), pela oportunidade de realização desta pesquisa, incluindo uma nova rotina ao trabalho diário e pela dedicação durante a coleta das amostras.

A **Equipe da Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital da Unimed de Novo Hamburgo** (corpo clínico, enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem), pelo enorme empenho, dedicação e parceria, contribuindo com excelência para a coleta das amostras e dos dados dos participantes da pesquisa.

A **PUCRS** por ter proporcionado minha bolsa de estudo.

A **Carla Rothmann** e **Ana Cardoso**, pela imensa gentileza, cordialidade e apoio durante todo o mestrado.

Aos **colegas do Curso de Pós-Graduação**, pela amizade, parceria e troca de experiências durante este período.

Aos **professores do Curso de Pós-Graduação**, por terem contribuído para o meu crescimento profissional.

Aos meus **pais Ari e Liane** e minha **irmã Bruna**, pelo amor incondicional e por me ensinarem que a disciplina é o caminho para o sucesso.

Aos **amigos e familiares**, que permaneceram sempre ao meu lado, transmitindo muito amor, tranquilidade e incentivo durante esta fase de estudo.

Aos **participantes do estudo**, que contribuíram para a descoberta de novos conhecimentos científicos.

“Se pensar é o destino do ser humano, continuar sonhando é o seu grande desafio. E isto, é lógico, implica em trajetórias com riscos, em vitórias, com muitas lutas, e não poucos obstáculos pelo caminho. Apesar de tudo, seja ousado. Liberte sua criatividade. E NUNCA DESISTA DOS SEUS SONHOS, pois eles transformarão sua vida em uma grande aventura.”

Augusto Cury

RESUMO

Introdução: Os recém-nascidos submetidos à cesariana eletiva que desenvolvem Taquipnéia Transitória do Recém-nascido tem apresentado uma baixa contagem de microbolhas estáveis no fluido gástrico. O fluido oral não foi usado anteriormente para avaliar a maturidade pulmonar após o nascimento.

Objetivo: Avaliar o Teste das Microbolhas Estáveis nos fluidos oral e gástrico ao nascimento para a predição da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

Métodos: Pacientes com idade gestacional ≥ 37 semanas, nascidos por cesariana eletiva, tiveram na sala de parto o fluido oral obtido imediatamente após o nascimento e o fluido gástrico com até uma hora de vida. As amostras foram congeladas para serem analisadas, cegamente, por dois observadores, conforme o método descrito por Pattle.

Resultados: No total, 544 neonatos foram incluídos no estudo. Destes, 22 desenvolveram dificuldade respiratória, necessitando de internação na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Vinte e quatro pacientes apresentaram sintomas respiratórios transitórios leves e não foram admitidos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Os pacientes que foram admitidos na unidade neonatal tiveram no fluido oral uma contagem mediana, mínimo e máximo de 67,5 (18-150) microbolhas/mm² e os 498 neonatos sem dificuldade respiratória tiveram uma contagem de 350 (5-10000) microbolhas/mm² – $p < 0,001$. No fluido gástrico, os neonatos internados tiveram uma contagem de 150 (24-1200) microbolhas/mm² e os neonatos sem dificuldade respiratória tiveram 600 (6-7000) microbolhas/mm² – $p < 0,05$. Os 24 pacientes com sintomas respiratórios leves e não internados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal tiveram uma contagem de microbolhas oral, mínimo e máximo de 137,5 (20-3750) microbolhas/mm² e no fluido gástrico 725 (20-4000) microbolhas/mm². Considerando somente os 22 pacientes admitidos e com um ponto de corte de 200 microbolhas/mm², o fluido oral mostrou uma sensibilidade de 81,8% e especificidade de 76,9% para o diagnóstico de Taquipnéia Transitória do Recém-nascido. Para o fluido gástrico, com um ponto de corte de 250 microbolhas/mm², a sensibilidade foi de 68,2% e a especificidade de 76,7%.

Conclusão: Os resultados sugerem que a Taquipnéia Transitória do Recém-nascido está associada a alterações do sistema surfactante. O fluido oral é uma alternativa à utilização do fluido gástrico para avaliar a maturidade pulmonar após o nascimento.

Palavras-chave: Microbolhas, Surfactantes Pulmonares, Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

ABSTRACT

Background: Term neonates delivered by elective cesarean section who developed Transient Tachypnea of the Newborn have shown a low number of stable microbubbles on gastric fluid. The oral fluid has not been previously used to evaluate the pulmonary maturity after birth.

Objective: To evaluate the Stable Microbubble Test in oral and gastric fluids for predicting of Transient Tachypnea of the Newborn.

Methods: Patients with gestational age ≥ 37 who were born by elective cesarean section were in the delivery room, oral fluid obtained immediately after birth and gastric fluid up to one hour of life. The samples were frozen to be analyzed blindly by two observers according to the method described by Pattle.

Results: In total, 544 neonates were included in the study. Of these, 22 developed respiratory distress requiring hospitalization in the Neonatal Intensive Care Unit (NICU). Twenty four patients had mild transient respiratory symptoms and were not admitted to the NICU. Patients who were admitted to the neonatal intensive care unit, in oral fluid had a median, minimum and maximum of 67.5 (18-150) microbubbles/mm² and 498 newborns without respiratory distress had a score of 350 (5-10000) microbubbles/mm² - $p < 0.001$. In gastric fluid, the neonates had a score of 150 (24-1200) microbubbles/mm² and neonates without respiratory distress were 600 (6-7000) microbubbles/mm² - $p < 0.05$. The 24 patients with mild respiratory symptoms and not admitted to the NICU had a count of oral microbubbles, minimum and maximum of 137.5 (20-3750) microbubbles/mm² in gastric fluid and 725 (20-4000) microbubbles/mm². Considering only the 22 patients admitted and a cutoff point of 200 microbubbles/mm², oral fluid showed a sensitivity of 81.8% and specificity of 76.9 % for the diagnosis of Transient Tachypnea of the Newborn. For the gastric fluid, with a cutoff point of 250 microbubbles/mm², sensitivity was 68.2 % and specificity of 76.7 %.

Conclusion: The results suggest that Transient Tachypnea of the Newborn is associated with alterations of the surfactant system. The oral fluid is an alternative method to the use of the amniotic fluid and gastric fluid for assessing fetal lung maturity after birth.

Keywords: Microbubbles; Pulmonary Surfactants; Transient tachypnea of the newborn.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados demográficos dos neonatos presentes nos três grupos do estudo..... 50

Tabela 2- Comparação da contagem de microbolhas nos três grupos do estudo 51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
CCL	Contagem de Corpos Lamelares
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
cm	Centímetros
mbe/mm ²	Microbolhas por milímetro quadrado
mm ²	Milímetro quadrado
p	probabilidade de significância
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
SDR	Síndrome do Desconforto Respiratório do Recém-nascido
SP-A	Surfactant Protein A
SP-B	Surfactant Protein B
SP-C	Surfactant Protein C
SP-D	Proteína Surfactante D
TME	Teste das Microbolhas Estáveis
TTRN	Taquipnéia Transitória do Recém-nascido
UTIN	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
1.1 APRESENTAÇÃO	15
1.2 JUSTIFICATIVA	18
1.3 OBJETIVOS	19
1.3.1 Objetivo geral.....	19
1.3.2 Objetivos específicos.....	19
1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO II.....	23
2.1 ARTIGO DE REVISÃO.....	24
CAPÍTULO III	35
3.1 ARTIGO ORIGINAL	36
CAPÍTULO IV.....	52
4.1 CONCLUSÕES	53

CAPÍTULO I

1.1 APRESENTAÇÃO

A Taquipnéia Transitória do Recém-Nascido (TTRN) foi descrita por Avery et al em 1966, como um quadro de desconforto respiratório leve a moderado, que acomete recém-nascidos a termo ou prematuros tardios. Os sintomas iniciam nas primeiras horas de vida e caracterizam-se por taquipnéia, retrações intercostais, batimento de asa nasal, gemido e discreta cianose. Frequentemente, os sintomas são atenuados pela suplementação de oxigênio com uma fração inspirada inferior a 0,40¹.

A TTRN tem sido associada à baixa absorção do líquido pulmonar após o nascimento, com conseqüente distensão do espaço intersticial e aprisionamento de ar^{2,3}. A reabsorção do líquido pulmonar depende dos níveis endógenos de catecolaminas, que são produzidas em maior proporção durante o trabalho de parto. Desse modo, o trabalho de parto parece ser um fator protetor para a TTRN, contribuindo igualmente para a preservação do sistema surfactante^{4,5,6}.

Entretanto, novas evidências sugerem que algum grau de disfunção ou deficiência na produção de surfactante possa estar relacionado à etiologia da doença. A realização do Teste das Microbolhas Estáveis (TME), que avalia a função do surfactante pulmonar, mostrou que a baixa contagem de microbolhas estaria relacionada ao prolongamento da doença pulmonar e ao maior tempo de oxigenioterapia^{7,8}.

Os fatores de risco para esta patologia são idade materna avançada, parto cesáreo sem trabalho de parto, doenças maternas, prematuridade, sexo masculino, gemelaridade e asfixia perinatal^{4,9,10,11}.

Estudos mostram que o aumento na demanda de partos cesáreos tem contribuído para a elevação no risco de TTRN, insuficiência respiratória, Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) e hipertensão pulmonar^{12,13,14}. A avaliação da maturidade pulmonar após o nascimento auxilia no diagnóstico precoce das disfunções respiratórias causadas por alterações quantitativas ou, até mesmo, funcionais do surfactante pulmonar, como mostra o estudo de Machado et al (2011), ao sugerir que recém-nascidos a termo com TTRN, possuem uma redução na função surfactante⁷.

Dentre os testes que verificam a maturidade pulmonar destaca-se o Teste das Microbolhas Estáveis, criado por Pattle, et al¹⁵, que pode ser realizado no líquido

amniótico, na secreção gástrica e no aspirado traqueal. Trata-se de um teste rápido (5 a 10 minutos), com baixo custo e de fácil realização, que verifica a capacidade das secreções que contêm surfactante em formar bolhas estáveis com menos de 15 micrômetros.

Para a realização do teste, o material (fluido gástrico, traqueal ou amniótico) deve ser homogeneizado suavemente e, então, aspirada uma amostra de 40 microlitros através de uma pipeta de Pasteur de 22 cm de comprimento (Brand GmbH & Co., Wertheimer, Alemanha), acoplada a uma borracha de pipetar e colocada próximo a uma câmara de contagem (Neubauer Improve Bright-Line, Loptik Labor, Alemanha). Esta amostra é aspirada e expelida durante, aproximadamente, seis segundos (em torno de vinte vezes), com o objetivo de promover a aeração do fluido. A câmara de contagem é imediatamente invertida, de modo a formar uma gota pendente, que é examinada após quatro minutos em um microscópio (100 aumentos). Após, é contado o número de microbolhas com menos de 15 micrômetros em quatro diferentes áreas da câmara de contagem e é calculada a quantidade média de bolhas por mm^2 , a partir das quatro áreas. As bolhas não-esféricas e as bolhas pretas não são computadas. O resultado da contagem é expresso em mbe/mm^2 .

No líquido amniótico, o TME mostrou semelhante desempenho aos demais testes que avaliam a maturidade pulmonar (relação Lecitina/Esfingomielina; relação Fosfatidilcolina/Esfingomielina; concentrações de lecitina, fosfatidilcolina, proteínas surfactantes SP-A¹², SP-B e SP-C e fator de crescimento de hepatócitos¹⁶)¹⁷.

Teeratakulpisarn et al utilizaram o aspirado gástrico para a realização do TME com um ponto de corte ≤ 20 microbolhas estáveis/ mm^2 . Os resultados mostraram uma sensibilidade e uma especificidade de 95% e um valor preditivo negativo acima de 99% para identificar neonatos com deficiência do sistema surfactante¹⁸.

Eckert et al (2005) avaliaram a precisão do TME no aspirado traqueal para o diagnóstico da SDR em pacientes que usaram ventilação mecânica. A partir de um ponto de corte de 120 microbolhas/ mm^2 , obtiveram uma especificidade de 97,6% e sensibilidade de 96,3%. As evidências mostraram que os pacientes pré-termo com SDR tiveram uma menor contagem de microbolhas quando comparados aos pré-termo saudáveis e aos neonatos a termo¹⁹.

Os demais estudos realizados com o TME nesta instituição e por outros pesquisadores serão abordados no artigo de revisão do capítulo seguinte. Este estudo

propõe a utilização do fluido oral como uma nova alternativa para a realização do teste. Apesar da sua importância, o TME ainda não foi testado no fluido oral. Esta secreção é constituída de uma mistura de líquido amniótico, líquido pulmonar e, provavelmente, saliva. É possível que o líquido presente na boca do recém-nascido seja um fluido representativo da produção do surfactante pulmonar. A comprovação da eficácia do TME no aspirado oral disponibilizará uma ferramenta importante para que a equipe de saúde verifique a maturidade pulmonar logo após o nascimento, contribuindo para a identificação precoce dos recém-nascidos com deficiência quantitativa ou, até mesmo qualitativa, da produção de surfactante.

1.2 JUSTIFICATIVA

O TME já foi testado no líquido amniótico, no aspirado gástrico e no aspirado traqueal, mostrando boa acurácia para predizer a SDR nos recém-nascidos pré-termo^{20,21,22}. Foi testado, nesta instituição, no aspirado gástrico de recém-nascidos com TTRN, mostrando que se comporta de modo semelhante à SDR⁸. Entretanto, desconhecemos estudos que utilizaram o fluido oral para a realização do teste no momento do nascimento. O fluido oral é aspirado rotineiramente pelo obstetra e desprezado. Se o TME no aspirado oral mostrar-se acurado para o diagnóstico da TTRN, o material colhido da boca poderá ser o de escolha para a realização rotineira do teste. O TME é um teste rápido (em torno de 5 a 10 minutos) que pode ser realizado na sala de parto sem nenhum custo.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

- Avaliar o Teste das Microbolhas Estáveis nos fluidos oral e gástrico ao nascimento para a predição da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

1.3.2 Objetivos específicos

- Verificar a viabilidade da realização do Teste das Microbolhas Estáveis no aspirado oral de recém-nascidos.
 - Comparar os resultados do Teste das Microbolhas Estáveis no aspirado oral e no aspirado gástrico em recém-nascidos a termo.
 - Avaliar a sensibilidade e a especificidade do Teste das Microbolhas Estáveis nos aspirados oral e gástrico para predizer o desenvolvimento da Taquipnéia Transitória do Recém-Nascido.
-

1.4 REFERÊNCIAS

1. Avery ME, Gatewood OB, Brumley G. Transient tachypnea of the newborn. *Am J Dis Child.* 1966; 111 : 380-385.
 2. Singhi SC, Chookang E. Maternal fluid overload during labour; transapental hyponatraemia and risk of transient neonatal tchypnoea in term infants. *Arch Dis Child.* 1984;59:1155-8.
 3. Rubaltelli FF ,Bonafe L , Tangucci M, Spagnolo A, Dani C. Epidemiology of neonatal acute respiratory disorders. A multicenter study on incidence and fatality rates of neonatal acute respiratory discords according to gestational age, maternal age, pregnancy complications and type of delivery. *Biol Neonate* 1998;74:7-15.
 4. Rubaltelli FF, Bonafe L. The incidence of acute neonatal respiratory in Padovan: epidemiological survey. *Acta Paediatr,* 1996;85:1236-40.
 5. Walters DV, Olver RE. The role of catecholamines in lung liquid absortion at birth. *Pediatric Res,* 1978;12:239-42.
 6. Faxelius G,Hägnevik K, Lagercrantz H, Lundell B, Irestedt L. Catecholamine surge and lung function after delivery. *Arch Dis Child.* 1983;58:262-6.
 7. Machado LU, Fiori HH, Baldisserotto M, Garcia PCR, Vieira ACG, Fiori RM. Surfactant deficiency in transient tachypnea of the newborn. *J pediatri.* 2011, 159(5): 750-4.
 8. Fiori HH, Henn R, Baldisserotto M, Bica IG, Fiori RM. Evaluation of surfactant function by the stable microbubble test in term and near term infants with respiratory distress. *Eur J Pediatr* 2004;163:443-8.
 9. Morrison JJ, Rennie JM, Milton PJ. Neonatal respiratory morbidity and mode of delivery at term: influence of timing of elective cesarean section. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995;102:101-6.
-

-
10. Dani C, Reali MF, Bertini G, Wiechmann L, Spagnolo A, Tangucci M, et al. Risk factors for the development of respiratory distress syndrome and transient tachypnea in newborn infants. *Eur Respir J.* 1990;14:155-9.
 11. Cloherty JP; Eichenwald D, Eric C; Starck AR. *Manual de Neonatologia.* 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
 12. Kornacka MK, Kufel K. Neonatal outcome after cesarean section. *Ginekol Pol,* 2011; 82; 8:612-7.
 13. Gortner L, Tutdibi E. Respiratory disorders in preterm and term neonates: an update on diagnostics and therapy. *Z Geburtshilfe Neonatol,* 2011; 215; 4:145-51.
 14. Tutdibi E, Gries K, Bücheler M, Misselwitz B, Schlosser RL, Gortner L. Impact of labor on outcomes in transient tachypnea of the newborn: population-based study. *Pediatrics,* 2010; 125; 3: 577-583.
 15. Pattle RE, Kratzing CC, Parkinson CE, Graves L, Robertson RD, Robards GJ, et al. Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979;86:615-22.
 16. Kumazawa K, Hiramatsu Y, Masuyama H, Mizutani Y, Nakata T, Kudo T. Prediction markers for respiratory distress syndrome: evaluation of the stable microbubble test, surfactant protein-A and hepatocyte growth factor levels in amniotic fluid. *Acta Med Okayama.* 2003, 57(1): 25-32.
 17. Chida S, Fujiwara T. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. I. Comparisons with other predictors of fetal lung maturity in amniotic fluid. *Eur J Pediatr.* 1993, 152(2): 148-51
 18. Teeratakulpisarn J, Taksaphan S, Pengsaa K, Wiangnon S, Kosuwon W. Prediction of idiopathic respiratory distress syndrome by the stable microbubble test on gastric aspirate. *PediatrPulmonol.* 1998;25(6):383-9.
-

-
19. Eckert SE, Fiori HH, Luz JH, Fiori RM. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol Neonate*. 2005;87:140-4.

 20. Steibel, Gustavo. Teste das microbolhas estáveis e corpos lamelares no líquido amniótico para predição da síndrome do desconforto respiratório no recém-nascido prematuro / Gustavo Steibel; orient. Humberto Holmer Fiori. Porto Alegre: PUCRS, 2008.

 21. Daniel IW, Fiori HH, Piva JP, Munhoz TP, Nectoux AV, Fiori RM. Lamellar body count and stable microbubble test on gastric aspirates from preterm infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Neonatology*. 2010;98:150-5.

 22. Vieira AC, Fiori HH, Garcia PC, Piva JP, Munhoz TP, Fiori RM. Lamellar body count and stable microbubble test on tracheal aspirates from infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Pediatr Crit Care Med*. 2012;13:178-82.
-

CAPÍTULO II

2.1 ARTIGO DE REVISÃO

A APLICABILIDADE CLÍNICA DO TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO E DA TAQUIPNÉIA TRANSITÓRIA DO RECÉM-NASCIDO.

CLINICAL APPLICABILITY OF THE STABLE MICROBUBBLE TEST FOR THE DIAGNOSIS OF RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME AND TRANSIENT TACHYPNEA OF THE NEWBORN.

Autores

Geovana Rhoden Estorgato (1), Renato Machado Fiori (2)

1 Enfermeira, mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

2 Médico, Professor da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Os currículos dos autores estão disponíveis na Plataforma Lattes do CNPq.

Fonte financiadora: não se aplica neste artigo de revisão.

Autor para correspondência: Renato Machado Fiori, Avenida Ipiranga, 6690, 5º andar, Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Cep 90.610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: fiori@pucrs.br.

RESUMO

Objetivo: Revisar na literatura a aplicabilidade clínica do Teste das Microbolhas Estáveis para o diagnóstico da Síndrome do Desconforto Respiratório e da Taquipnéia Transitória do recém-nascido.

Métodos: Foram selecionados estudos publicados no período de 1979 a 2012 na base de dados eletrônica PubMed e no acervo pessoal dos autores, a partir dos descritores do Medical Subject Headings (Microbubbles, Pulmonary Surfactants e Newborn), totalizando 17 estudos para a análise.

Resultados: a análise dos estudos mostrou que o Teste das Microbolhas Estáveis possui desempenho semelhante ou superior aos demais testes utilizados para a avaliação da maturidade pulmonar no recém-nascido. Auxilia no diagnóstico precoce da Síndrome do Desconforto Respiratório e da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido, sendo um teste rápido, com baixos custos e de fácil operacionalização, o que justifica a sua aplicabilidade clínica.

Palavras-chave: Microbolhas, Surfactante Pulmonar, Recém-nascido.

ABSTRACT

Objective: To review the literature about the clinical applicability of the stable microbubble test for the diagnosis of respiratory distress syndrome and transient tachypnea of the newborn.

Methods: We used the following descriptors of Medical Subject Headings (microbubble, pulmonary surfactants and newborn), and selected articles published between 1979-2012 in the electronic databases PubMed and from the authors' personal collection. In total, 17 studies were selected for analysis.

Results: The analysis of the researches showed that the stable microbubble test has similar or superior acting in comparison with other tests used for the evaluation of lung maturation in newborns. Besides, it assists in the early diagnosis of respiratory distress syndrome and transient tachypnea of the newborn, being a quick test, with low cost and easy operation, which justifies its clinical applicability.

Keywords: Microbubbles, Pulmonary Surfactants, Newborn.

INTRODUÇÃO

O surfactante pulmonar é responsável pela redução da tensão superficial alveolar e prevenção do colapso pulmonar no final da expiração^{1,2}. É composto basicamente por lipídios (90%)¹ e proteínas (SP-A, SP-B, SP-C e SP-D)^{3,4}, que forma uma película em torno da superfície alveolar, reduzindo a pressão na interface ar-líquido dos alvéolos⁵. Sua deficiência é a principal causa da Síndrome do Desconforto Respiratório do Recém-nascido (SDR)⁶ e, recentemente, verificou-se uma relação entre a redução da função surfactante com o desenvolvimento da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido (TTRN) em neonatos a termo⁷.

Os testes usados para verificação da maturidade pulmonar quantificam a presença do surfactante ou analisam qualitativamente a sua função no líquido amniótico⁸, no aspirado gástrico⁹ e no aspirado traqueal¹⁰. Dentre os testes existentes destaca-se o Teste das Microbolhas Estáveis (TME), criado por Pattle, et al. Trata-se de um teste rápido (5 a 10 minutos), com baixos custos e de fácil operacionalização, que verifica a capacidade das secreções que contêm surfactante em formar bolhas estáveis com menos de 15 micrômetros⁸.

O objetivo deste estudo foi descrever os dados encontrados na literatura sobre a aplicabilidade clínica do Teste das Microbolhas Estáveis para o diagnóstico da Síndrome do Desconforto Respiratório e da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão da literatura, a partir de estudos publicados no período de 1979 a 2012. Para a coleta de estudos, foi utilizada a base de dados em meio eletrônico PubMed, bem como os artigos do acervo pessoal dos autores. A seleção dos estudos compreendeu os seguintes critérios: publicação nos anos de 1979 a 2012, conter os descritores do Medical Subject Headings (Microbubble, Pulmonary Surfactants e Newborn), redação nos idiomas inglês e português e relação com o objetivo do estudo. Os dados utilizados para o embasamento teórico desta revisão foram selecionados pela análise

do resumo e leitura textual dos artigos. Este processo aconteceu nos meses de janeiro a junho de 2013. Do total de 26 estudos encontrados no PubMed, foram selecionados 13 artigos para revisão e 13 artigos foram excluídos (sete estudos sem relação com o objetivo da pesquisa, dois estudos experimentais e quatro estudos indisponíveis para acesso). Foram incluídos quatro estudos do acervo pessoal dos autores para o embasamento dos resultados.

RESULTADOS

O TME é um teste biofísico que avalia a deficiência da função surfactante através da observação de microbolhas estáveis (menores que 15 micrômetros de diâmetro) presentes nas secreções que contêm surfactante, como o líquido amniótico^{8,11,12,13,14}, o aspirado gástrico^{7,9,15,16,17,18,19} e o aspirado traqueal^{10,20,21,22}. O primeiro estudo desenvolvido por Pattle, et al no líquido amniótico, mostrou que uma contagem superior a 20 microbolhas/mm² significava maturidade pulmonar e a baixa contagem de microbolhas estáveis sugeria um elevado risco para disfunção respiratória no recém-nascido⁸. O teste não é afetado pela presença de sangue, mas seu resultado pode ser alterado pela presença de mecônio⁸.

Inicialmente, a maturidade pulmonar fetal era avaliada pelas equipes de obstetrícia, até 24 horas antes do nascimento, nos casos em que a gestação deveria ser interrompida precocemente. Neste contexto, o TME realizado com o líquido amniótico mostrou semelhante desempenho aos testes que eram rotineiramente utilizados na prática clínica (relação Lecitina/Esfingomiélin; relação Fosfatidilcolina/Esfingomiélin; concentrações de lecitina, fosfatidilcolina, proteínas surfactantes SP-A¹², SP-B e SP-C e fator de crescimento de hepatócitos¹²)¹¹. Quando comparado à Contagem de Corpos Lamelares (CCL), os resultados mostraram que os dois testes realizados isoladamente no líquido amniótico possuíam desempenho similar para o diagnóstico da SDR. O uso combinado dos testes aumentou a especificidade e a razão de verossimilhança positiva em um estudo, sem modificar a sensibilidade¹⁴.

Após a disseminação do uso de surfactante, a importância da avaliação pré-natal da maturidade pulmonar fetal reduziu. Por outro lado, vislumbrou-se o potencial de utilização de testes rápidos que fossem realizados à beira do leito e que pudessem identificar os

neonatos com deficiência de surfactante. O TME começou a ser avaliado para este fim e a secreção gástrica, pela facilidade de obtenção, passou a ser uma opção para a realização do teste, já que se constituía de líquido amniótico, líquido pulmonar e resíduo gástrico^{23,24}.

Neste contexto, a eficácia da secreção gástrica para a predição da SDR em neonatos pré-termo foi comparada ao líquido amniótico, utilizando a técnica descrita anteriormente por Pattle et al⁸. A partir de um ponto de corte inferior a cinco microbolhas/mm² para o líquido amniótico e inferior a dez microbolhas/mm² para o aspirado gástrico, a sensibilidade encontrada foi de 80% e 63% e a especificidade de 100% e 99%, respectivamente, em prematuros menores de 35 semanas de idade gestacional. Os resultados mostraram que o TME em ambas as amostras era um teste rápido, simples e factível na identificação precoce dos neonatos que poderiam desenvolver disfunção respiratória⁹.

No aspirado gástrico, estes achados foram confirmados por outros autores que encontraram uma sensibilidade de 50% e uma especificidade de 80% utilizando 15 microbolhas/mm² como ponto de corte¹⁶. Estes autores ainda realizaram uma análise computadorizada na secreção gástrica de recém-nascidos prematuros e, a partir de um ponto de corte <20 microbolhas/mm², encontraram uma sensibilidade para o teste de 87% e uma especificidade de 78%²⁵.

A acurácia do TME no aspirado gástrico foi comparada com os resultados do Click Test¹⁶ e da CCL¹⁹ para o diagnóstico da SDR em prematuros. No geral, os estudos mostraram que o TME possuía eficácia semelhante ou superior aos demais métodos utilizados para o diagnóstico desta patologia^{16,19}.

Fiori, et al (2006) mostraram, posteriormente, que o TME poderia auxiliar na seleção de pacientes para a administração profilática de surfactante exógeno, reduzindo custos e intervenções desnecessárias. Neste estudo, os 54 neonatos que apresentaram contagem de microbolhas inferior a 25 microbolhas/mm² no aspirado gástrico receberam surfactante profilático e, apenas três dos 44 pacientes com contagem superior a 25 microbolhas/mm², receberam surfactante após o surgimento dos sintomas da SDR¹⁸. Com este estudo, sugerem os autores que a utilização do TME com tal finalidade faz com que os neonatos com disfunção respiratória sem deficiência quantitativa de surfactante não sejam submetidos desnecessariamente à administração de surfactante exógeno, que exige a realização de procedimentos invasivos e de custos elevados.

Fiori et al (2004) estudaram o TME em recém-nascidos com TTRN. Estes autores observaram que 92% dos neonatos com microbolhas abaixo de 35 microbolhas/mm² necessitaram de oxigênio por um período igual ou superior a 24 horas, quando comparado a 17% dos recém-nascidos que utilizaram oxigênio por um período inferior a 24 horas¹⁷. Estes achados foram confirmados por Machado, et al (2011) que encontraram baixas contagens de microbolhas nos neonatos a termo com TTRN que necessitaram de oxigenioterapia por um período igual ou superior a 48 horas, quando comparado aos pacientes que usaram oxigênio por um período inferior a 48 horas. Os autores sugeriram que o prolongamento da doença estaria associado a anormalidades do sistema surfactante⁷.

Novos estudos foram realizados utilizando o aspirado traqueal para a realização do TME. O estudo de Friedrich, et al (1998) avaliou a acurácia do TME no aspirado traqueal e obteve uma especificidade de 90% e sensibilidade de 52%. A baixa sensibilidade do estudo não encorajou a realização rotineira do teste²⁰. No entanto, Boo et al (1997) já haviam descrito uma melhor acurácia para o TME no aspirado traqueal¹⁰. Em neonatos que utilizaram ventilação mecânica o teste mostrou uma especificidade de 97,6% e sensibilidade de 96,3%²¹. Já os achados de Vieira et al (2012), mostraram uma sensibilidade de 97,4% e especificidade de 97,1%²².

DISCUSSÃO

Os estudos analisados mostraram que o TME tanto no líquido amniótico, no aspirado gástrico e no aspirado traqueal é um teste simples, rápido, com baixos custos e acurado para o diagnóstico da SDR. É eficaz na seleção de pacientes que apresentam comprometimento da função surfactante, possibilitando a administração precoce de surfactante exógeno, reduzindo a exposição a intervenções invasivas.

Após a análise dos estudos, pode-se mencionar como limitação para a realização do teste com o líquido amniótico a não disponibilidade de material em pacientes transferidos. Para o aspirado gástrico, pode-se mencionar o tempo para a coleta da secreção, que deve ser realizada até 30 minutos após o nascimento, evitando alteração da concentração do surfactante na amostra pela ação das enzimas gástricas. Já o aspirado traqueal requer que os pacientes estejam intubados, exigindo a exposição a um procedimento invasivo, o que é

justificado nos casos em que houver necessidade clínica de ventilação mecânica ou a administração de surfactante exógeno endotraqueal. Apesar de o TME ser um teste operador-dependente, pode-se aumentar a confiabilidade da análise das amostras com a utilização de dois examinadores.

Pode-se concluir com esta revisão da literatura que o TME mostrou-se semelhante ou superior aos testes rotineiramente utilizados para a avaliação da maturidade pulmonar no recém-nascido, justificando a sua aplicabilidade clínica.

REFERÊNCIAS

- 1 Lyra PP, Diniz EM. The importance of surfactant on the development of neonatal pulmonary diseases. *Clinics*. 2007, 62(2):181-90.
 - 2 Possmayer F. Physicochemical Aspects of pulmonary Surfactant. In: Polin RA, Fox WW (Ed). *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 1998;4:1259-75.
 - 3 Kuroki Y, Voelker DR. Pulmonary surfactant proteins. *J Biol Chem*. 1994, 269(42): 25943-6.
 - 4 Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. *Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde*. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.v 4 (Série A. Normas e Manuais Técnicas).
 - 5 Jobe AH, Ikegami M. Biology of surfactant. *Clin Perinatol*. 2001(28): 655- 669.
 - 6 Hamvas A. Pathophysiology and Management of Respiratory Distress Syndrome. In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC, editors. *Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine Diseases of the Fetus and Infant*. 9 ed. St Louis: Elsevier Mosby; 2011.
 - 7 Machado LU, Fiori HH, Baldisserotto M, et al. Surfactant deficiency in transient tachypnea of the newborn. *J pediatr*. 2011, 159(5): 750-4.
 - 8 Pattle RE, Kratzing CC, Parkinson CE, et al: Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. *Br J Obstet Gynaecol*. 1979, 86(8): 615-22.
 - 9 Chida S, Fujiwara T, Konishi M, et al. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. II. Prospective evaluation of the test on amniotic fluid and gastric aspirate. *Eur J Pediatr*, 1993. 152(2)152-6.
-

10 Boo NY, Cheong KB, Cheong SK, et al. Usefulness of stable microbubble test of tracheal aspirate for the diagnosis of neonatal respiratory distress syndrome. *J Paediatr Child Health*. 1997, 33(4): 329-34.

11 Chida S, Fujiwara T. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. I. Comparisons with other predictors of fetal lung maturity in amniotic fluid. *Eur J Pediatr*. 1993, 152(2): 148-51.

12 Kumazawa K, Hiramatsu Y, Masuyama H, et al. Prediction markers for respiratory distress syndrome: evaluation of the stable microbubble test, surfactant protein-A and hepatocyte growth factor levels in amniotic fluid. *Acta Med Okayama*. 2003, 57(1): 25-32.

13 Verder H, Ebbesen F, Linderholm B. Prediction of Respiratory Distress Syndrome by the microbubble stability test on gastric aspirates in newborns of less than 32 weeks' gestation. *Acta Paediatr*. 2003, jun; 92(6): 728-33.

14 Steibel G, Fiori HH. Teste das microbolhas estáveis e corpos lamelares no líquido amniótico para predição da síndrome do desconforto respiratório no recém-nascido prematuro. [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2008.

15 Teeratakulpisarn J, Taksaphan S, Penqsaa K, et al. Prediction of Idiopathic Respiratory Distress Syndrome by the Stable Microbubble Test on Gastric Aspirate. *Pediatr Pulmonol*. 1998, 25(6) :383-9.

16 Fiori HH, Varela I, Justo AL, et al. Stable microbubble test and click test to predict respiratory distress syndrome in preterm infants not requiring ventilation at birth. *J Perinat Med*. 2003, 31(6): 509-14.

17 Fiori HH, Henn R, Baldisserotto M, et al. Evaluation of surfactant function at the birth determined by the stable microbubble test in term and near term infants with respiratory distress. *Eur J Pediatr*. 2004, 163(8): 443-8.

18 Fiori HH, Fritscher CC, Fiori RM. Selective surfactant prophylaxis in preterm infants born at < or =31 weeks' gestation using the stable microbubble test in gastric aspirates. *J Perinat Med.* 2006, 34(1): 66-70.

19 Daniel IW, Fiori HH, Piva JP, et al. Lamellar body count and the stable microbubble test on gastric aspirates from preterm infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Neonatology.* 2010, 98(2): 150-5.

20 Friedrich W, Haufe M, Schmalish G, et al. The stable microbubble test on tracheal aspirate samples from newborn babies for diagnosis of surfactant deficiency and/or surfactant malfunction. *Biol Neonate.* 1998; 73 (1): 10-8.

21 Eckert SE, Fiori HH, Luz JL, et al. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol Neonate.* 2005, 87(2): 140-4.

22 Vieira AC, Fiori HH, Garcia PC, et al. Lamellar body count and stable microbubble test on tracheal aspirates from infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Pediatr Crit Care Med.* 2012; 13(2): 178-82.

23 Cowett RM, Unsworth EJ, Hakanson DO, Williams JR, Oh W. Foam-stability test on gastric aspirate and the diagnosis of respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 1975, 293: 413-16.

24 Smith CA, Nelson NM. *The physiology of the newborn infant.* 4 ed. Charles C Thomas Publisher. Springfield, 1976.

25 Fiori HH, Linderholm B, Fiori RM, Robertson B. Computerized image analysis of bubbles in gastric aspirate for prediction of respiratory distress syndrome. *Acta Paediatr.* 2002; 90: 1402-4.

CAPÍTULO III

3.1 ARTIGO ORIGINAL

Teste das Microbolhas Estáveis nos fluidos oral e gástrico para predição da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido em neonatos a termo submetidos à cesariana eletiva

Autores

Geovana Rhoden Estorgato (1), Humberto Holmer Fiori (2), Manoel Antonio da Silva Ribeiro (3), Davi de Paula (4) e Renato Machado Fiori (5)

1 Enfermeira, Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

2 Médico, Doutor em Medicina e Ciências da Saúde pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

3 Médico, Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

4 Médico, Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

5 Médico, Professor da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Currículo dos autores está disponível na Plataforma Lattes do CNPq.

Fonte financiadora: não se aplica neste artigo.

Autor para correspondência: Renato Machado Fiori, Avenida Ipiranga, 6690, 2º andar, Instituto de Pesquisas Biomédicas. Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: fiori@puers.br.

Resumo

Introdução: Os recém-nascidos submetidos à cesariana eletiva que desenvolvem Taquipnéia Transitória do Recém-nascido tem apresentado uma baixa contagem de microbolhas estáveis no fluido gástrico. O fluido oral não foi usado anteriormente para avaliar a maturidade pulmonar após o nascimento.

Objetivo: Avaliar o Teste das Microbolhas Estáveis nos fluidos oral e gástrico ao nascimento para a predição da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

Métodos: Pacientes com idade gestacional ≥ 37 semanas, nascidos por cesariana eletiva, tiveram na sala de parto o fluido oral obtido imediatamente após o nascimento e o fluido gástrico com até uma hora de vida. As amostras foram congeladas para serem analisadas, cegamente, por dois observadores, conforme o método descrito por Pattle.

Resultados: No total, 544 neonatos foram incluídos no estudo. Destes, 22 desenvolveram dificuldade respiratória, necessitando de internação na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Vinte e quatro pacientes apresentaram sintomas respiratórios transitórios leves e não foram admitidos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Os pacientes que foram admitidos na unidade neonatal tiveram no fluido oral uma contagem mediana, mínimo e máximo de 67,5 (18-150) microbolhas/mm² e os 498 neonatos sem dificuldade respiratória tiveram uma contagem de 350 (5-10000) microbolhas/mm² – $p < 0,001$. No fluido gástrico, os neonatos internados tiveram uma contagem de 150 (24-1200) microbolhas/mm² e os neonatos sem dificuldade respiratória tiveram 600 (6-7000) microbolhas/mm² – $p < 0,05$. Os 24 pacientes com sintomas respiratórios leves e não internados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal tiveram uma contagem de microbolhas oral, mínimo e máximo de 137,5 (20-3750) microbolhas/mm² e no fluido gástrico 725 (20-4000) microbolhas/mm². Considerando somente os 22 pacientes admitidos e com um ponto de corte de 200 microbolhas/mm², o fluido oral mostrou uma sensibilidade de 81,8% e especificidade de 76,9% para o diagnóstico de Taquipnéia Transitória do Recém-nascido. Para o fluido gástrico, com um ponto de corte de 250 microbolhas/mm², a sensibilidade foi de 68,2% e a especificidade de 76,7%.

Conclusão: Os resultados sugerem que a Taquipnéia Transitória do Recém-nascido está associada a alterações do sistema surfactante. O fluido oral é uma alternativa à utilização do fluido gástrico para avaliar a maturidade pulmonar após o nascimento.

Palavras-chave: Microbolhas, Surfactantes Pulmonares, Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

Abstract

Background: Term neonates delivered by elective cesarean section who developed Transient Tachypnea of the Newborn have shown a low number of stable microbubbles on gastric fluid. The oral fluid has not been previously used to evaluate the pulmonary maturity after birth.

Objective: To evaluate the Stable Microbubble Test in oral and gastric fluids for predicting of Transient Tachypnea of the Newborn.

Methods: Patients with gestational age ≥ 37 who were born by elective cesarean section were in the delivery room, oral fluid obtained immediately after birth and gastric fluid up to one hour of life. The samples were frozen to be analyzed blindly by two observers according to the method described by Pattle.

Results: In total, 544 neonates were included in the study. Of these, 22 developed respiratory distress requiring hospitalization in the Neonatal Intensive Care Unit (NICU). Twenty four patients had mild transient respiratory symptoms and were not admitted to the NICU. Patients who were admitted to the neonatal intensive care unit, in oral fluid had a median, minimum and maximum of 67.5 (18-150) microbubbles/mm² and 498 newborns without respiratory distress had a score of 350 (5-10000) microbubbles/mm² - $p < 0.001$. In gastric fluid, the neonates had a score of 150 (24-1200) microbubbles/mm² and neonates without respiratory distress were 600 (6-7000) microbubbles/mm² - $p < 0.05$. The 24 patients with mild respiratory symptoms and not admitted to the NICU had a count of oral microbubbles, minimum and maximum of 137.5 (20-3750) microbubbles/mm² in gastric fluid and 725 (20-4000) microbubbles/mm². Considering only the 22 patients admitted and a cutoff point of 200 microbubbles/mm², oral fluid showed a sensitivity of 81.8% and specificity of 76.9 % for the diagnosis of Transient Tachypnea of the Newborn. For the gastric fluid, with a cutoff point of 250 microbubbles/mm², sensitivity was 68.2 % and specificity of 76.7 %.

Conclusion: The results suggest that Transient Tachypnea of the Newborn is associated with alterations of the surfactant system. The oral fluid is an alternative method to the use of the amniotic fluid and gastric fluid for assessing fetal lung maturity after birth.

Keywords: Microbubbles; Pulmonary Surfactants; Transient tachypnea of the newborn.

Introdução

A Taquipnéia Transitória do Recém-nascido é uma causa comum de desconforto respiratório em neonatos a termo ou prematuros tardios durante os primeiros dias de vida. Os sintomas iniciam logo após o nascimento e caracterizam-se por uma disfunção respiratória em que o sintoma mais evidente é a taquipnéia, necessitando, frequentemente, da suplementação de oxigênio¹.

Esta patologia tem sido associada a um retardo na absorção do líquido pulmonar após o nascimento, com conseqüente distensão do espaço intersticial e aprisionamento de ar^{2,3}. A crescente demanda de partos cesáreos sem o início do trabalho de parto tem contribuído para o aumento de casos da doença^{4,5,6}.

Recentemente, novas evidências mostraram que algum grau de disfunção ou deficiência do sistema surfactante possa estar relacionado com a etiologia da doença. A realização do Teste das Microbolhas Estáveis no aspirado gástrico de neonatos com Taquipnéia Transitória do Recém-nascido evidenciou que uma baixa contagem de microbolhas estáveis estaria relacionada com o prolongamento do quadro respiratório e com um maior tempo de oxigenioterapia^{7,8}.

Nos últimos anos, os estudos realizados no líquido amniótico^{9,10,11,12,13}, no aspirado gástrico^{14,15,16,17,18,19,20} e no aspirado traqueal^{21,22,23,24} mostraram que o Teste das Microbolhas Estáveis era um bom indicativo do grau de maturidade pulmonar. Entretanto, o método nunca foi testado no fluido oral após o nascimento. O fluido oral, por se constituir de líquido amniótico e líquido pulmonar diluídos, poderia ser uma amostra representativa do nível de surfactante pulmonar e, com isso, uma alternativa para a realização do teste.

O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho do Teste das Microbolhas Estáveis nos fluidos oral e gástrico ao nascimento para a predição da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido.

Metodologia

Trata-se de um estudo transversal, realizado no período de dezembro de 2012 a outubro de 2013, nos Serviços de Neonatologia e Obstetrícia do Hospital da Unimed, em Novo Hamburgo e no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

A amostra incluiu neonatos a termo, com idade gestacional ≥ 37 semanas, nascidos por cesariana eletiva, nos quais foi possível coletar o fluido oral e o aspirado gástrico. Foram excluídos os recém-nascidos com malformações congênitas complexas e síndromes genéticas.

Foram registrados os dados obstétricos e perinatais. A idade gestacional foi determinada por ecografia obstétrica precoce e confirmada pelo Método de Capurro²⁵. O diagnóstico de Taquipnéia Transitória do Recém-nascido foi estabelecido por critérios clínicos e/ou radiológicos, segundo a equipe médica da Unidade Neonatal.

O fluido oral foi coletado imediatamente após o nascimento pelo obstetra na sala de parto e o fluido gástrico foi obtido pela enfermeira da Unidade de Terapia Intensiva Neonatal até uma hora após o parto. As amostras foram congeladas a -20°C e foram analisadas em até 30 dias²⁶, de maneira cega, por dois observadores treinados, conforme o método modificado descrito por Pattle et al⁹. As amostras coletadas no hospital da Unimed de Novo Hamburgo, foram transportadas acondicionadas em uma caixa de isopor com gelo seco para o Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul para o processamento da contagem das microbolhas.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e pelas Comissões Científicas dos hospitais envolvidos no estudo. Houve liberação da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, por se tratar de um estudo que utilizou secreções colhidas na rotina do atendimento e que seriam desprezadas.

Os dados foram processados e analisados com o auxílio dos programas Excel 2010 e Epi Info (versão 7.1.1.14). As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas. As variáveis quantitativas foram descritas pela média e desvio padrão, quando a

sua distribuição foi simétrica ou mediana, intervalo interquartil, mínimo e máximo, quando assimétrica.

As variáveis categóricas foram comparadas entre os grupos pelo teste de Qui-quadrado. As variáveis quantitativas paramétricas foram comparadas pelo Teste Anova e Teste Exato de Fisher para amostras independentes e as variáveis não paramétricas pelos testes de Mann Whitney e Kruskal-Wallis. A correlação entre os grupos foi estabelecida pelo Teste de Spearman. As diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

Resultados

No total, 544 neonatos foram incluídos no estudo. Foram excluídos da amostra 23 recém-nascidos: dois neonatos por apresentarem malformação congênita cardíaca com repercussão hemodinâmica e 21 neonatos que tiveram coleta do fluido oral e/ou gástrico insuficientes, impossibilitando a análise do material. Dos neonatos estudados, 22 (4,04%) desenvolveram dificuldade respiratória com necessidade de admissão na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (Grupo I) e 24 (4,41%) apresentaram sintomas respiratórios transitórios leves e não foram admitidos (Grupo II). Quatrocentos e noventa e oito recém-nascidos não apresentaram dificuldade respiratória (Grupo III). Os dados demográficos dos recém-nascidos podem ser visualizados na Tabela 1.

O grupo de neonatos com sintomas respiratórios leves (Grupo II) não apresentou diferença significativa na contagem de microbolhas no fluido gástrico quando comparado ao grupo de recém-nascidos sem disfunção respiratória (Grupo III). Já no fluido oral, houve uma diferença significativa na contagem de microbolhas entre os grupos. A comparação da contagem de microbolhas oral e gástrica nos três grupos é mostrada na Tabela 2.

Considerando somente os 22 pacientes admitidos e utilizando um ponto de corte de 200 microbolhas/mm², o fluido oral mostrou uma sensibilidade de 81.8% e especificidade de 76.9% para o diagnóstico de Taquipnéia Transitória do Recém-nascido. Para o fluido gástrico, com um ponto de corte de 250 microbolhas/mm² a sensibilidade foi de 68.2% e a especificidade de 76.7%.

O coeficiente de correlação de Spearman entre os fluidos gástrico e oral nos grupos I e II foi de 0.87 ($p < 0,001$) e 1 ($p < 0,001$), respectivamente.

Discussão

Neste estudo, os recém-nascidos que apresentaram dificuldade respiratória após o nascimento e necessitaram de internação na UTIN tiveram uma contagem de microbolhas estáveis significativamente mais baixa nos fluidos oral e gástrico quando comparados aos neonatos saudáveis, o que evidencia uma disfunção do sistema surfactante. Os seguintes achados confirmam a associação previamente descrita entre a presença de disfunção respiratória em neonatos a termo, submetidos ao parto cesáreo e alterações do sistema surfactante^{7,8}.

Os recém-nascidos que apresentaram um quadro respiratório brando e não necessitaram de internação na UTIN, tiveram uma contagem de microbolhas estáveis significativamente mais baixa no fluido oral. No entanto, o teste com o fluido gástrico revelou resultados comparáveis aos dos recém-nascidos saudáveis. Esta diferença de contagem talvez seja resultado da diluição do fluido oral e, conseqüentemente, das microbolhas estáveis no momento do parto. Nestes recém-nascidos, a disfunção respiratória leve pode ser resultado do excesso de líquido nas vias aéreas ao nascimento, o que não afetaria significativamente o fluido gástrico.

O Teste das Microbolhas Estáveis no fluido oral mostrou uma correlação quase perfeita com o teste no fluido gástrico, indicando que pode ser uma alternativa para a avaliação da maturidade pulmonar ao nascimento. A sensibilidade e a especificidade encontradas para o teste no fluido oral foram de 81,8% e 76,9% e para o fluido gástrico foram de 68,2% e 76,7%, respectivamente. As baixas sensibilidade e especificidade do teste não encorajam o seu uso para o diagnóstico da Taquipnéia Transitória do Recém-nascido. Tais achados confirmam resultados de pesquisas prévias^{7,8}. A avaliação clínica segue como melhor alternativa para o diagnóstico da doença.

Como vantagem para a realização do TME com o fluido oral está a rapidez na obtenção do material, que pode ser coletado imediatamente após o desprendimento

cefálico. Além disso, este método não submete o recém-nascido a um procedimento invasivo, como é a sondagem gástrica.

Este estudo sugere que o fluido oral seja testado em pacientes com Síndrome do Desconforto Respiratório do Prematuro, nos quais o diagnóstico de imaturidade pulmonar é mais relevante para o tratamento.

Referências Bibliográficas

1 Avery ME, Gatewood OB, Brumley G. Transient tachypnea of the newborn. *Am J Dis Child.* 1966; 111 : 380-385.

2 Singhi SC, Chookang E. Maternal fluid overload during labour; transapental hyponatraemia and risk of transient neonatal tchypnoea in term infants. *Arch Dis Child.* 1984;59:1155-8.

3 Rubaltelli FF ,Bonafe L , Tangucci M, Spagnolo A, Dani C. Epidemiology of neonatal acute respiratory disorders. A multicenter study on incidence and fatality rates of neonatal acute respiratory discords according to gestational age, maternal age, pregnancy complications and type of delivery. *Biol Neonate* 1998;74:7-15.

4 Morrison JJ, Rennie JM, Milton PJ. Neonatal respiratory morbidity and mode of delivery at term: influence of timing of elective cesarean section. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995;102:101-6.

5 Dani C, et al. Risk factors for the development of respiratory distress syndrome and transient tachypnea in newborn infants. *Eur Respir J.*1990;14:155-9.

6 Moraes ET. Via de nascimento e desfecho clínico intra-hospitalar. [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2013:50p.

7 Machado LU, et al. Surfactant Deficiency in Transient Tachypnea of the Newborn. *Journal of pediatrics.* 2011, 159;5:750-3.

8 Fiori HH, Henn R, Baldisserotto M, Bica IG, Fiori RM. Evaluation of surfactant function by the stable microbubble test in term and near term infants with respiratory distress. *Eur J Pediatr* 2004;163:443-8.

-
- 9 Pattle RE, Kratzing CC, Parkinson CE, et al: Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979, 86(8): 615-22.
- 10 Chida S, Fujiwara T. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. I. Comparisons with other predictors of fetal lung maturity in amniotic fluid. *Eur J Pediatr.* 1993, 152(2): 148-51.
- 11 Kumazawa K, Hiramatsu Y, Masuyama H, et al. Prediction markers for respiratory distress syndrome: evaluation of the stable microbubble test, surfactant protein-A and hepatocyte growth factor levels in amniotic fluid. *Acta Med Okayama.* 2003, 57(1): 25-32.
- 12 Verder H, Ebbesen F, Linderholm B. Prediction of Respiratory Distress Syndrome by the microbubble stability test on gastric aspirates in newborns of less than 32 weeks' gestation. *Acta Paediatr.* 2003, jun; 92(6): 728-33.
- 13 Steibel G, Fiori HH. Teste das microbolhas estáveis e corpos lamelares no líquido amniótico para predição da síndrome do desconforto respiratório no recém-nascido prematuro. [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2008.
- 14 Parkinson CE, Harvey D, Talbert D. Surface properties of amniotic fluid bubbles. *Biol Neonate.* 1974;25:289-9.
- 15 Chida S, Fujiwara T, Konishi M, et al. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. II. Prospective evaluation of the test on amniotic fluid and gastric aspirate. *Eur J Pediatr,* 1993. 152(2):152-6.
- 16 Teeratakulpisarn J, Taksaphan S, Penqsaa K, et al. Prediction of Idiopathic Respiratory Distress Syndrome by the Stable Microbubble Test on Gastric Aspirate. *Pediatr Pulmonol.* 1998, 25(6) :383-9.
-

17 Fiori HH, Varela I, Justo AL, et al. Stable microbubble test and click test to predict respiratory distress syndrome in preterm infants not requiring ventilation at birth. *J Perinat Med.* 2003, 31(6): 509-14.

18 Fiori HH, Linderholm B, Fiori RM, Robertson B. Computerized image analysis of bubbles in gastric aspirate for prediction of respiratory distress syndrome. *Acta Paediatr.* 2002; 90: 1402-4.

19 Fiori HH, Fritscher CC, Fiori RM. Selective surfactant prophylaxis in preterm infants born at < or =31 weeks' gestation using the stable microbubble test in gastric aspirates. *J Perinat Med.* 2006, 34(1): 66-70.

20 Daniel IW, Fiori HH, Piva JP, et al. Lamellar body count and the stable microbubble test on gastric aspirates from preterm infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Neonatology.* 2010, 98(2): 150-5.

21 Boo NY, Cheong KB, Cheong SK, et al. Usefulness of stable microbubble test of tracheal aspirate for the diagnosis of neonatal respiratory distress syndrome. *J Paediatr Child Health.* 1997, 33(4): 329-34.

22 Friedrich W, Haufe M, Schmalish G, et al. The stable microbubble test on tracheal aspirate samples from newborn babies for diagnosis of surfactant deficiency and/or surfactant malfunction. *Biol Neonate.* 1998; 73 (1): 10-8.

23 Eckert SE, Fiori HH, Luz JL, et al. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol Neonate.* 2005, 87(2): 140-4.

24 Vieira AC, Fiori HH, Garcia PC, et al. Lamellar body count and stable microbubble test on tracheal aspirates from infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Pediatr Crit Care Med.* 2012; 13(2): 178-82.

25 Capurro H, Korichzky S, Fonseca O, Caldeiro-Barcia R. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978;93:120-122.

26 Pereira MAR. Inter e intravariabilidade e o efeito do congelamento no teste das microbolhas estáveis realizado na secreção gástrica de recém-nascidos [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2002:106p.

Tabelas

Tabela 1- Dados demográficos dos neonatos presentes nos três grupos do estudo.

	Grupo I (n=22)	Grupo II (n=24)	Grupo III (n=498)	Significância (valor de p)
IG (semanas)	38 (37-41)	38 (37-39)	38 (37-42)	NS
Peso (gramas)	3275 (\pm 382)	3398 (\pm 317)	3288 (\pm 426)	NS
AIG (peso X semanas)	17 (77%)	18 (75%)	420 (84%)	NS
PIG (peso X semanas)	0 (0%)	0 (0%)	5 (1%)	NS
GIG (peso X semanas)	5 (22%)	6 (25%)	73 (14%)	NS
Apgar 1 min	8 (2-9)	9 (6-10)	9 (3-10)	p <0,001
Apgar 5 min	9 (6-10)	9 (8-10)	9 (6-10)	p <0,001

IG, Apgar 1 min, Apgar 5 min são expressos em mediana, mínimo e máximo; peso em média e desvio padrão; AIG, PIG, GIG em número absoluto e proporção.

IG= Idade Gestacional; AIG= Adequado para a Idade Gestacional; PIG= Pequeno para a Idade Gestacional; GIG= Grande para a Idade Gestacional; Apgar 1 min= Apgar no primeiro minuto de vida; Apgar 5 min= Apgar no quinto minuto de vida.

Tabela 2- Comparação da contagem de microbolhas nos três grupos do estudo.

	Grupo I (n=22)	Grupo II (n=24)	Grupo III (n=498)	Significância (valor de p)
TMEO	67,5 (18-150)	137,5 (20-3750)	350 (5-10000)	p <0,001
TMEG	150 (24-1200)	725 (20-4000)	600 (6-7000)	p <0,05

Resultados são expressos em mediana (mínimo e máximo). TMEO= Teste das Microbolhas Estáveis Oral; TMEG= Teste das Microbolhas Estáveis Gástrico.

CAPÍTULO IV

4.1 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo sugerem que a Taquipnéia Transitória do Recém-nascido está associada a alterações do sistema surfactante. O fluido oral mostrou uma correlação quase perfeita com o fluido gástrico, podendo ser uma alternativa à sua utilização para avaliar a maturidade pulmonar após o nascimento, evitando a realização de um procedimento invasivo, como a sondagem gástrica.
