

Programa de Pós-Graduação em Patologia

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre



Tayara Pigatto

**Avaliação da Maturidade Pulmonar
Fetal e Desfecho Neonatal em uma
População de Alto Risco de um
Hospital Terciário de Porto Alegre**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2014**

Programa de Pós-Graduação em Patologia
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Tayara Pigatto

Avaliação da Maturidade Pulmonar Fetal e Desfecho Neonatal em uma População de Alto Risco de um Hospital Terciário Porto Alegre

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Dra. Mirela Foresti Jiménez
Co-orientadora: Dra. Patrícia El Beitune

Porto Alegre
2014

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a quem sempre me inspira e incentiva a lutar e buscar os meus ideais.... Um herói, que esta sempre ao meu lado em todas as horas, me apoiando em todas as decisões, ensinando o certo e o errado, mas deixando que eu escolha o caminho.... Meu pai.

Agradeço especialmente a minha avó, pessoa essencial em nossas vidas, sem a qual, com certeza, nosso caminho teria se tornado um pouco mais difícil.... Muito obrigada pelo carinho, colo nas horas necessárias e por toda a estrutura e exemplo de vida que sempre nos demonstrou.

A minha irmã, que suportou com carinho meus muitos momentos de mau-humor, que está sempre disposta a ajudar, e que, apesar de um pouco distante, está sempre perto, dentro do meu coração e pensamento. A todos os meus queridos familiares e amigos, que entendem os meus muitos momentos de ausência, muito obrigada.

Agradeço aos meus queridos colegas de profissão, da Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Porto Alegre, minha segunda casa, pelos muitos anos de ensinamentos e convivência; aos mestres por ensinarem a não desistir quando surgem os problemas e ensinarem os segredos e o amor a esta profissão que tanto nos exige diariamente; aos residentes pelo prazer da convivência e de poder auxiliar no crescimento de cada um de vocês, muito obrigada.

As minhas queridas orientadora e co-orientadora, Dra. Mirela F. Jiménez e Dra.

Patrícia El Beitune, por todo auxílio e palavras de incentivo, acreditando em
mim neste projeto.

Obrigada a minha colega Vanessa Carpes, que iniciou este projeto em 2009, e
as queridas Ellen M. Arlindo e Michelle Grandi que me auxiliaram nas
pesquisas.

Um agradecimento que não poderia faltar, mais do que especial, aos meus
amados colegas e amigos da vida e do mestrado, Débora P. Todeschini e
Rodrigo B. Cardoso, que tornaram esses últimos dois anos mais leves, mais
rápidos e muito mais divertidos, sem os quais eu não teria chegado até aqui.
Por fim, agradeço a ela... Minha mãe, que de onde estiver, com certeza, me
ilumina e comemora cada vitória comigo!

SUMÁRIO

1. Introdução e Revisão Bibliográfica	11
1.1. Síndrome do Desconforto Respiratório	12
1.2. Surfactantes Pulmonares	17
1.2.1. Relação Lecitina/Esfingomiélin.....	18
1.2.2. Fosfatidilglicerol	19
1.2.3. Teste de Clements	21
1.2.4. Corpos Lamelares	23
1.3. Patologias Maternas	25
1.3.1. Diabetes <i>mellitus</i>	26
1.3.2. Hipertensão arterial sistêmica	30
1.3.2.1. Hipertensão arterial sistêmica crônica	31
1.3.2.2. Pré-eclâmpsia/Eclâmpsia	31
1.3.2.3. Hipertensão arterial sistêmica sobreposta por pré-eclâmpsia	34
1.3.2.4. Hipertensão gestacional	35
1.3.2.5. Colestase gestacional.....	36
1.4. Patologias fetais	38
1.4.1. Crescimento Intrauterino Restrito	38
1.5. Amniocentese	41
2. Referências Bibliográficas	45
3. Justificativa e Objetivos	56
3.1. Justificativa	56

3.2.Objetivo Principal	58
3.3.Objetivos Secundários	58
4. Artigo Científico	60
5. Anexos	104
5.1. Anexo 1 – Ficha de Coleta de Dados	104
5.2. Anexo 2 – Termo de Autorização para Utilização e Manuseio de Dados.....	106
5.3. Anexo 3 – Termo de Compromisso para Utilização de Dados de Prontuários Médicos.....	107
5.4. Anexo 4 - Parecer Comitê de Ética – UFCSPA	118
5.5. Anexo 5 – Parecer Comitê de Ética – ISCMPA.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS

RN	Recém-nascido
SDR	Síndrome do Desconforto Respiratório
LA	Líquido amniótico
OD	<i>Odds Ratio</i>
TTRN	Taquipnéia Transitória do Recém-nascido
IC	Índice de Confiança
ACOG	<i>American College of Obstetrician and Gynecologists</i>
RUPREME	Ruptura Prematura de Membranas
L/E	Lecitina/Esfingomielina
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
S	Sensibilidade
E	Especificidade
VPP	Valor Preditivo Positivo
VPN	Valor Preditivo Negativo
IMC	Índice de Massa Corporal
TTGO	Teste de Tolerância Oral à Glicose
GJ	Glicemia de Jejum
GGT	Glutamiltranspeptidase
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
IMIP	Instituto Materno – Infantil de Pernambuco
GIG	Grande para a idade gestacional
RDS	<i>Respiratory Distress Syndrome</i>

NB	<i>Newborn</i>
GA	<i>Gestational Age</i>
SD	<i>Standard Deviation</i>
AF	<i>Amniotic Fluid</i>
FGR	<i>Fetal Growth Restriction</i>
NICU	<i>Neonatal Intensive Care Unit</i>
L/S	<i>Lecithin/sphingomyelin</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
S	<i>Sensitivity</i>
Sp	<i>Specificity</i>
PPV	<i>Positive Predictive Value</i>
NPV	<i>Negative Predictive Value</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i>

RESUMO

Introdução: A Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) é causa importante de morbimortalidade, principalmente em recém-nascidos (RN) prematuros. A avaliação da maturidade pulmonar fetal é importante, para determinar um momento seguro para interromper a gestação, reduzindo riscos de complicações neonatais.

Objetivos: Avaliar o desempenho dos testes de maturidade pulmonar fetal em líquido amniótico (LA) de gestações de alto risco e avaliar as indicações de punção, a idade gestacional (IG) na punção e na interrupção e os desfechos neonatais (peso, Apgar, oxigenioterapia, uso de surfactante).

Metodologia: Estudo retrospectivo com avaliação do LA de 105 gestantes de alto risco da Maternidade Mário Totta, no Hospital Santa Casa, em Porto Alegre, entre janeiro de 1999 e março de 2013. Avaliamos a relação lecitina/esfingomielina (L/E), fosfatidilglicerol e teste de Clements. As amostras foram colhidas por amniocentese.

Resultados: A principal indicação para avaliação da maturidade pulmonar fetal foi a diabetes em 80 pacientes (76,2%). A média (desvio padrão) da IG no momento da punção foi de 37,1(1,24) semanas. O peso médio (desvio padrão) dos RN foi 3325 (616) gramas.

O fosfatidilglicerol teve melhor especificidade (E) e valor preditivo positivo (VPP) para todos os desfechos analisados.

Considerando a necessidade de utilizar surfactante pelo RN, a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) apresentou a relação de L/E < 1,35 como ponto de corte para imaturidade pulmonar.

Conclusão: Observamos que o fosfatidilglicerol foi o teste com melhor VPP. Definimos um novo ponto de corte da relação L/E de <1,35 para imaturidade pulmonar. A avaliação da maturidade pulmonar fetal é útil no manejo da gestação de alto risco, porém não é o único parâmetro para decidir o momento do parto, uma vez que o prematuro está sujeito a diversas outras complicações graves, além da SDR.

Palavras-chave: maturidade pulmonar fetal, teste de Clements, fosfatidilglicerol, lecitina, esfingomielina.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O sistema pulmonar fetal é um dos últimos a ficar maduro funcional e estruturalmente (Balchin e cols., 2008). A raça parece afetar a maturidade pulmonar fetal, sendo alcançada antes em negros e sul-asiáticos. Como o sistema pulmonar imaturo não oxigena adequadamente um recém-nascido (RN), o nascimento prematuro pode levar a morbimortalidade neonatal significativa (Balchin e cols., 2008). Entre as complicações neonatais decorrentes da imaturidade pulmonar, a Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) é causa importante de morbimortalidade, principalmente em recém-nascidos (RN) prematuros. A avaliação da maturidade pulmonar fetal é necessária durante a gestação, em algumas situações, para determinar o momento mais seguro para a interrupção da gestação antes do termo, reduzindo os riscos de complicações neonatais. Vários testes laboratoriais estão disponíveis para esta finalidade, sendo, a maioria deles, através da análise do líquido amniótico. O resultado destes testes obtidos da análise do líquido amniótico (LA) nos fornece uma avaliação indireta da probabilidade de maturidade pulmonar fetal, já que testes diretos de função pulmonar fetal não são possíveis (Parrilla e cols., 1993).

1.1. Síndrome do Desconforto Respiratório

A SDR, também conhecida com Doença da Membrana Hialina, é uma doença respiratória principalmente de bebês prematuros. É a maior causa de morbidade e mortalidade neonatal, atingindo aproximadamente 1% de todos nascidos vivos e 10% dos nascidos pré-termo (*The American Thoracic Society*, 2000). O risco e a gravidade aumentam com a prematuridade. Recém-nascidos com menos de 29 semanas de gestação apresentam 60% de chance de desenvolver a SDR (Besnard e cols., 2013). Se não houver tratamento adequado pode ocorrer morte do RN por hipóxia progressiva e falência respiratória (Sweet e cols., 2010).

A SDR é causada pela produção insuficiente de surfactantes pelos pneumócitos tipo II juntamente com a imaturidade estrutural do pulmão fetal (Besnard e cols., 2013). A atelectasia causada pela deficiência de surfactante, em combinação com o tamanho pequeno dos alvéolos pulmonares, resulta em alvéolos perfundidos, porém sem ventilação, levando a hipoxia, hipercapnia e acidose. Estas condições produzem vasoconstrição das artérias pulmonares que, em conjunto com o *shunt* direita-esquerda, através do forame oval e do canal arterial, diminuem o fluxo sanguíneo pulmonar. A lesão pulmonar isquêmica resultante, através do extravasamento de proteínas séricas para dentro dos alvéolos, as quais inibem ainda mais a produção e a ação dos surfactantes, cria uma deficiência secundária de surfactante, agravando a

doença. Impedir o nascimento prematuro é o meio mais eficaz para prevenir a SDR (Grenache e cols., 2006). Alternativamente, administração de corticóides para a mãe pode ser usada para acelerar a produção de surfactante (Crowley e cols., 2006; Robert e cols., 2006).

Tratamento de RN imediatamente após o nascimento com surfactante exógeno endotraqueal pode ser eficaz se o nascimento prematuro não puder ser evitado.

Clinicamente a SDR apresenta-se como desconforto respiratório precoce compreendendo cianose, gemência, retração costal e taquipnéia. Falência respiratória pode se desenvolver, sendo indicada avaliação gasométrica. O diagnóstico pode ser confirmado por raio-X de tórax, cujo aspecto será de “vidro moído” e com a presença de broncograma aéreo. A definição do *The Vermont Oxford Neonatal Network*, requer que o RN apresente uma $PaO_2 < 50\text{mmHg}$ ($< 6,6\text{ kPa}$) em ar ambiente, cianose central em ar ambiente ou necessidade de oxigênio suplementar para manter uma $PaO_2 > 50\text{mmHg}$ ($> 6,6\text{ kPa}$), bem como a clássica aparência do raio-X. No entanto, atualmente não necessitamos ter todos os critérios clássicos presentes para definir o diagnóstico de SDR. O objetivo do reconhecimento da SDR é proporcionar intervenções que irão maximizar o número de sobreviventes, minimizando os efeitos adversos.

Recém-nascidos prematuros devem ter postergado 30-45 segundos o clampeamento do cordão umbilical, tendo como resultado um hematócrito maior, menor necessidade de transfusão posterior e uma menor ocorrência de hemorragia intraventricular. Há evidências também, de que a ressuscitação com oxigênio a 100%, em comparação com o ar ambiente, está associada ao aumento da mortalidade em RN a termo e prematuros, a titulação de oferecimento de oxigênio deve ocorrer de acordo com a necessidade do RN. Novos dispositivos atualmente são utilizados para fornecer oxigênio com pressão adequada, sendo também importantes para evitar um dano maior ao pulmão fetal. Entubação deve ser reservada para RN não responsivos a ventilação com pressão positiva ou que necessitem de surfactante (Sweet e cols., 2010).

Estudo realizado por Zanardo e cols. (2004), que comparava o risco de morbidade neonatal respiratória e o tipo de nascimento a termo, avaliou se a idade gestacional (IG) entre 37 sem e 41 sem e 6 dias influenciava no prognóstico respiratório neonatal na cesárea eletiva em gestações sem complicações. Durante o período do estudo, ocorreram 1284 cesáreas eletivas após 37 semanas de gestação. A morbidade respiratória neonatal (*Odds Ratio*, OR), incluindo SDR e Taquipnéia Transitória do Recém-Nascido (TTRN), outra doença pulmonar comum aos nascidos pré-termo, foi significativamente maior no grupo de cesárea eletiva versus parto normal (OR= 2,6; IC a 95%: 1,35-5,9 – $P < 0,01$). Enquanto o risco de TTRN não foi aumentado (OR= 1,19; IC a 95%: 0,58 – 2,4 – $P > 0,05$), o risco SDR aumentou significativamente (OR =

5,85; IC a 95%: 2,27 – 32,4 – $P < 0,01$). O risco de SDR aumentou significativamente nas semanas 37 a 38 + 6 (OR= 12,9; IC a 95%: 3,57 – 35,53 – $P < 0,01$). Após 39 semanas, não houve diferença. Assim, RN de cesárea eletiva a termo tem maior risco de apresentar distúrbios respiratórios comparados com os RN de parto vaginal. A redução significativa no risco da SDR seria obtida se a cesárea eletiva fosse realizada após 39 semanas de gestação (Zanardo e cols., 2004).

Nas gestações a termo complicadas com *diabete mellitus* gestacional e pré-gestacional, o estudo de Klos e cols. (2002), evidenciou que o nascimento por cesariana foi um preditor independente de síndrome de desconforto respiratório (OR= 2,21; IC a 95%: 2,04 – 2,27).

Sabe-se também que RN de mães diabéticas apresentam vinte vezes mais chance de desenvolver a SDR, quando comparados com RN de mães não diabéticas (Moore, 2002).

O *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) de 2006, recomenda o curso único de corticóide ante-natal para todas as mulheres entre 24 e 34 semanas de gestação que apresentam risco de parto prematuro dentro de 7 dias. Também recomenda um único curso de corticoide pré-natal administrado em pacientes com Ruptura Prematura de Membranas (RUPREME) antes de 32 semanas de gestação para reduzir os riscos de SDR,

a mortalidade perinatal, e outras morbidades neonatais. A eficácia do uso de corticoides em pacientes com RUPREME entre 32-33 semanas não está totalmente esclarecida, mas o tratamento pode ser benéfico, particularmente se a imaturidade pulmonar for documentada. Não existem dados sobre a eficácia do uso de corticoide antes da viabilidade fetal, sendo não recomendado seu uso neste momento. Além disso, devido a insuficiente evidência científica, repetir ciclos de corticóide, chamada “terapia de resgate”, não deve ser realizada rotineiramente (Crowley, 2009; Sotiriadis e cols., 2010).

O uso do surfactante está bem fundamentado no RN pré-termo. Já com relação ao uso de surfactante nos RN próximo ao termo com síndrome do desconforto respiratório, o estudo de Golombeck e cols. (2000) evidenciou melhora na $P(A-a) O_2$ (Gradiente Alvéolo-arterial de O_2) que caiu de 64 para 41,8 mmHg em 6hs ($P<0,0001$) no RN com idade gestacional de 35 semanas a 39 semanas com SDR que recebeu surfactante; não houve relação entre idade de tratamento (6 –89hs) e resposta ao tratamento (segundo estes autores, o tratamento tardio com surfactante pode ainda ser efetivo).

Uma metanálise realizada em 2000 (Soll e cols., 2000), mostrou uma redução da incidência de pneumotórax, de enfisema intersticial pulmonar e da mortalidade, principalmente nos prematuros abaixo de 32 semanas, quando o surfactante foi usado de modo profilático. Assim, a instilação precoce de surfactante em todos os RN com risco de SDR é uma estratégia efetiva, porém

de elevado custo e não isenta de riscos. Desse modo, faz-se necessário utilizar testes capazes de identificar os pacientes que se beneficiariam dessa prática.

1.2. Surfactantes Pulmonares

Os surfactantes encontrados nos pulmões humanos são compostos principalmente de fosfolípidios (80%), proteínas (10%) e lipídeos neutros (10%). A fosfatidilcolina (lecitina), o fosfatidilglicerol e a esfingomielina são os fosfolípidios principais (Zugaib, 2008). Tratam-se de componentes endógenos responsáveis pela redução da tensão superficial dos alvéolos, prevenindo o colapso alveolar, sendo importantes para prevenir a SDR (Guoyang e cols., 2008).

A amniocentese é o exame de eleição para obtenção de líquido amniótico e pode ser realizado a partir da 15ª semana de gestação, guiado por ultrassonografia. A taxa de perda fetal após a amniocentese é de 0,5% ou menos e outras complicações como sangramento, corioamnionite, perda de líquido ou lesões fetais são raras (Leveno, 2010). Os exames que podem ser realizados para diagnosticar maturidade pulmonar fetal são: relação lecitina/esfingomielina (L/E), presença de fosfatidilglicerol, teste de estabilização das bolhas (Clements) e contagem de corpos lamelares (Grenache, 2006).

1.2.1. RELAÇÃO LECITINA/ESFINGOMIELINA

A relação lecitina/esfingomielina (L/E) foi o primeiro teste bioquímico utilizado para avaliação da maturidade pulmonar fetal e passou a ser o teste mais aceito e o mais frequentemente utilizado atualmente. A lecitina é o principal surfactante pulmonar e tem sua concentração aumentada a partir da 28ª semana até o final da gestação. A relação L/E descreve a mudança relativa na concentração de lecitina em relação à concentração de esfingomielina no líquido amniótico, conforme determinado pela cromatografia de camada delgada (CCD). Apesar de baixa, a concentração de esfingomielina no líquido amniótico continua a ser constante ao longo do último trimestre da gravidez e, portanto, serve como um padrão interno contra o qual a concentração de lecitina pode ser comparada (Gluck e cols., 1974).

O estudo de Gluck e cols. (1973) sugeriu que o aumento da concentração de lecitina em relação à esfingomielina era indicativo de maturidade pulmonar. A relação entre os dois permite uma avaliação do surfactante que não depende do volume de LA (Gluck e cols., 1974). A maior dificuldade de interpretação ocorre com valores intermediários e como com a presença de sangue ou mecônio. O tempo prolongado de realização do exame, o custo elevado e a necessidade de contar com pessoal treinado para a sua realização também são problemas relacionados ao teste (Hamilton e cols., 1984). A determinação da relação lecitina/esfingomielina envolve cromatografia

em camada fina após a extração de solvente orgânico. É um teste tecnicamente difícil de realizar e interpretar. Além disto, o cuidado na manipulação de cada etapa é crucial para resultados consistentes. A amostra deve ser mantida em geladeira ou resfriada, se for necessário o transporte para um laboratório. Condições de armazenamento inadequadas podem alterar a relação L/E, pois o líquido amniótico contém enzimas que podem ser afetadas pela temperatura. O LA deve ser bem misturado antes de ser testado, e este teste leva várias horas para ser executado, o que é uma de suas desvantagens (Ashwood e cols., 1997). Vários estudos mostram tratar-se de um teste com alta sensibilidade e valor preditivo negativo. O estudo de Anceschi e cols. (1996) mostrou sensibilidade de 100%, especificidade de 81%, valor preditivo positivo de 36% e valor preditivo negativo de 100%.

1.2.2. FOSFATIDILGLICEROL

O fosfatidilglicerol, apesar de sua relativa baixa contribuição no total dos surfactantes, também tem sido utilizado para avaliar a maturidade pulmonar fetal. O surgimento do fosfatidilglicerol ocorre muitas semanas após o surgimento da lecitina, sendo, por conseguinte, considerado um marcador tardio de maturidade pulmonar fetal. Este teste foi sugerido no estudo conduzido por Gluck e cols.(1973), pois quando associado à relação L/E aumenta sua acurácia, quando o resultado da relação L/E for $> 2,0$, além de

diminuir os falsos-negativos, já que a mesma possui baixa especificidade. A detecção do fosfatidilglicerol é um forte indicador de que não haverá SDR.

A maior vantagem do fosfatidilglicerol como marcador da maturidade pulmonar fetal, é o fato de não sofrer interferência na presença de sangue ou mecônio (Gluck e cols.,1974). Portanto, trata-se de um marcador de maturidade quando há contaminação do líquido amniótico por sangue ou mecônio, mesmo quando o resultado da relação L/E for questionado. Como inconveniente, temos o longo tempo de análise (3-5 horas) e variações da técnica que podem afetar a reprodutibilidade e a expressão (Gluck e cols.,1974). A avaliação do fosfatidilglicerol pode ser realizada por meio da cromatografia em camada fina, de modo que pode ser realizada sozinha ou em conjunto com a relação lecitina/esfingomielina. Pode ser reportado qualitativamente como positivo ou negativo; quando positivo, há um risco extremamente pequeno do RN apresentar SDR; ou ainda ser reportado quantitativamente, quando um valor for $\geq 0,5$ está associado com uma taxa mínima de SDR. Por ser a cromatografia de camada fina um teste complicado na técnica e no tempo de execução, foram criados outros testes como o teste imunológico de aglutinação em lâmina semi-quantitativa rápida (AmnioStat-FLM) e vários outros testes enzimáticos desenvolvidos e validados, como técnicas aceitáveis para detecção do fosfatidilglicerol. O teste de aglutinação em lâmina é o teste mais comum, no entanto parece ser menos sensível para a detecção de maturidade pulmonar fetal que o teste de cromatografia de camada fina.

A principal desvantagem do fosfatidilglicerol é que sua ausência, especialmente antes da 36ª semana de gestação, sendo menos preditivo da ocorrência de SDR do que o resultado negativo de outros testes (Coapman-Hankin e cols.,1985). Trata-se de um teste com boa sensibilidade, especificidade e valor preditivo negativo. Em estudo de Garite e cols. (1983) o teste apresentou sensibilidade de 100%, especificidade de 80%, valor preditivo positivo de 38% e valor preditivo negativo de 100%.

1.2.3 TESTE DE CLEMENTS

O teste de Clementes, relatado pela primeira vez em 1972 por Clements e cols., mostra a capacidade do surfactante de manter a forma de bolhas estáveis devido à tensão superficial da interface ar-solvente, tornando de sucesso este teste rápido e de baixo custo para a avaliação da maturidade pulmonar fetal. Inúmeros outros estudos foram apresentados após, para identificar a concentração de etanol que deveria ser adicionado ao líquido amniótico, sendo definida a utilização de 0,5 ml de líquido amniótico em diferentes volumes de etanol 95%. O teste de Clements apresenta excelente sensibilidade, 98%, porém frequentemente produz falsos-negativos (falsos-imaturos) (especificidade de 85%) (Grenach e cols.,2006).

As amostras de LA não devem ser coletadas em tubos de silicone, quando este teste é planejado, pois o silicone produz “falsas bolhas”. A

discriminação de um valor indicativo de maturidade é geralmente definida como ≥ 47 . Um estudo positivo, praticamente exclui o risco de SDR, no entanto um teste negativo muitas vezes ocorre na presença de pulmões maduros, como já descrito acima. A presença de sangue e mecônio na amostra interfere no resultado do teste (Jobe e cols., 1999).

Utilizam-se três tubos limpos de 8 a 14 mm de diâmetro por 100 mm de altura, colocando-se em cada tubo as seguintes quantidades de LA: 1,0 ml, 0,75 ml e 0,50 ml. Completa-se o volume para 1 ml com soro fisiológico. Em seguida, adiciona-se etanol a 95% em todos os tubos, sendo fechados e agitados vigorosamente cada um destes tubos por 15 segundos e a leitura foi feita após um período de 15 minutos. O teste é considerado positivo quando se verifica a presença de anel completo de bolhas estáveis até o terceiro tubo, negativo quando não se observa a presença de bolhas, e intermediário quando as bolhas não se completam até o terceiro tubo (Nomura e cols., 2001).

Um estudo realizado com pacientes hipertensas no Instituto Materno-Infantil de Pernambuco (IMIP) determinou que quando os testes foram considerados positivos, uma sensibilidade de 87,9% e uma especificidade de 74,5%, valor preditivo positivo e negativo de respectivamente 89,4% e 71,4%, com uma acurácia de 84% (Amorim e cols., 1998)

1.2.4. CORPOS LAMELARES

Outro teste muito utilizado atualmente é a contagem de corpos lamelares, primariamente descrita por Dubin (Dubin, 1989), que é capaz de estimar quantitativamente a presença de surfactantes no líquido amniótico. O estudo evidenciou que quanto maior a quantidade de corpos lamelares presentes no líquido amniótico, maior a maturidade pulmonar fetal. Inúmeros outros estudos compararam a contagem de corpos lamelares aos outros testes já consagrados, mostrando forte concordância na avaliação da maturidade pulmonar fetal. A semelhança entre o tamanho do corpo lamelar e das plaquetas permite a utilização de um contador de células hematológicas automatizado para quantificar o número de corpos lamelares presentes no líquido amniótico, utilizando-se os mesmos parâmetros da contagem de plaquetas (Grenache, e cols.,2006).

O teste da contagem de corpos lamelares já foi sugerido por inúmeros autores como teste de rastreamento da maturidade pulmonar fetal, pois apresenta sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN), semelhantes aos dos exames de referência (Wijnberg e cols., 2001). Os resultados dos estudos de Roiz-Hernandez e cols.(2002), sobre corpos lamelares no líquido amniótico processado no momento do parto, foram comparados com a evolução clínica da SDR. O autor encontrou sensibilidade de 92,3% e especificidade de 70,9%. Diversos estudos

relatam diferentes pontos de corte para a avaliação da maturidade pulmonar, a maioria deles, entretanto, refere boa sensibilidade do teste quando aplicado ponto de corte para maturidade pulmonar de 50.000/ μ L, sendo considerado imaturo se for menor que 30.000 e intermediário quando os valores ficam entre 30.00 e 50.000 (Ventolini e cols., 2012; Zhao e cols., 2013).

Por estas razões, tem se utilizado a contagem de corpos lamelares como um teste de triagem inicial, se a contagem de corpos lamelares for intermediária, utiliza-se um segundo teste, geralmente a relação L/E (Ventolini e cols., 2012).

Comparado à técnica de cromatografia de camada fina, a contagem de corpos lamelares é mais rápida, mais objetiva, menos trabalhosa, menos dependente de técnica e de menor custo (Neerhof e cols., 2001). Uma meta-análise comparando dados de seis estudos com *cut-off* de corpos lamelares: <10.000 <20.000 (2 estudos) <30.000 e <46.000; mostrou performance ligeiramente melhor que da relação L/E na predição de SDR (Wijnberg e cols., 2001).

Desde 1996, a *American College of Obstetrics and Gynecology* recomenda o estudo sequencial da maturidade pulmonar fetal (ACOG, 1996), e esta abordagem sequencial foi recomendada, pois qualquer um dos testes positivos seria fortemente preditivo da ausência da DR. Recomenda-se que

seja realizado primeiramente um teste rápido, como a contagem de corpos lamelares e se o resultado for francamente maduro ou imaturo não há necessidade de seguir a investigação. Porém, se o resultado for intermediário ou próximo ao ponto de corte, requer-se seguimento da investigação com a mesma amostra.

A ACOG recomenda documentação da maturidade pulmonar fetal quando há necessidade de nascimento antes de 39 semanas de gestação, mas, apesar de se seguir um protocolo de documentação, continua ocorrendo uma grande morbidade em fetos cujo parto ocorre antes de 39 semanas. Embora o número de falsos positivos em testes de maturidade pulmonar fetal seja pequeno, talvez eles sejam os responsáveis pelo desenvolvimento de complicações respiratórias pós-natal em neonatos cujos testes sugeriam maturidade pulmonar. Sabe-se também, que o risco de complicações é maior em RN por cesariana e em filhos de mães diabéticas (Ventolini e cols., 2012).

1.3 . PATOLOGIAS MATERNAS

Algumas condições maternas podem afetar a produção de surfactantes e ter impacto na maturidade pulmonar fetal. Outras podem implicar em necessidade, por condições maternas ou fetais, de interromper a gestação antes do termo. Quando for necessário interromper a gestação antes do termo, pode-se lançar mão de medicamentos que aumentem a produção de

surfactantes, acelerando a maturidade pulmonar (Ballard, 1989). Os glicocorticoides são os principais agentes estimuladores da produção de surfactantes que se conhece. A utilização desses hormônios antes do nascimento tem a função de agir como os corticoides endógenos que são liberados durante o estresse fetal, diminuindo as complicações pós-natais como SDR grave, hemorragia intra-ventricular, enterocolite necrosante, e infecções sistêmicas nas primeiras 48h de vida (ACOG, 2008).

1.3.1. *DIABETE MELLITUS*

A gestação está relacionada ao aumento da resistência a insulina, mediada principalmente pela secreção de hormônios placentários, incluindo hormônio do crescimento, hormônio liberador de corticotropina, hormônio lactogênio placentário e progesterona. Estas e outras alterações metabólicas asseguram que o feto tenha uma ampla oferta de nutrientes. O *diabete mellitus* se desenvolve durante a gestação, em mulheres com função pancreática insuficiente para superar a resistência à insulina associada ao estado gestacional. Os principais riscos associados a *diabete* são o desenvolvimento de pré-eclampsia, a macrosomia fetal, o parto cesáreo, e outras morbidades associadas. Recentemente, a *International Association of Diabete and Pregnancy Study Group* (IADPSG), a *American Diabete Association* (ADA), a *World Health Organization* (WHO) e outros grupos, tem atentado para distinguir mulheres com *diabete mellitus* pré-existente, com diagnóstico durante a

gestação, daquelas com doença relacionada à resistência a insulina da gestação. Esta mudança nos critérios diagnósticos preconizados pelas entidades em consenso, evidencia o aumento da prevalência de *diabete mellitus* tipo 2 em mulheres em idade fértil (ADA, 2014).

A prevalência de *diabete mellitus* gestacional nos Estados Unidos é de 6-7% (Cowle e cols., 2010), variando de acordo a etnia e características populacionais. As principais complicações relacionadas à *diabete mellitus* gestacional são: pré-eclampsia, polidrâmnio, macrosomia fetal, organomegalia fetal, trauma materno ou fetal durante o parto, parto cesáreo, mortalidade perinatal, problemas respiratórios e metabólicos neonatais, como hipoglicemia, hiperbilirrubinemia, hipocalemia e eritremia (Pettitt e cols., 1980).

São muitos os riscos associados ao desenvolvimento de *diabete mellitus* gestacional, os principais são: história pessoal de intolerância a glicose ou de *diabete mellitus* gestacional em gestação anterior; familiares de primeiro grau com história de *diabete mellitus*; ganho de peso excessivo ou índice de massa corporal (IMC) maior de 30 Kg/m²; idade materna superior a 25 anos; parto de feto com mais de 4100 gramas, perdas fetais sem explicação ou fetos malformados; glicosúria na primeira visita de pré-natal; peso materno ao nascimento maior de 4100 gramas ou menor de 2700 gramas; condições médicas associadas à *diabete mellitus* como: síndrome metabólica, síndrome dos ovários policísticos, uso de corticoide, hipertensão (Solomon e cols., 1997).

No final de 2009, os resultados do estudo HAPO e de outros estudos realizados com o objetivo de determinar o melhor teste para o diagnóstico da *diabete mellitus* gestacional foram avaliados pela *International Association of Diabete and Pregnancy Study Groups* (IADPSG), gerando consenso publicado em março de 2010 (IADPSG, 2010). Neste consenso ficou definido que o teste de tolerância oral com sobrecarga de 75 gramas de glicose é o teste de escolha para o diagnóstico de *diabete mellitus* gestacional; que o teste deverá ser aplicado a todas as gestantes entre 24^a e a 28^a semanas de gestação e que deverá ser incluída análise das glicemias de jejum (oito horas) e uma e duas horas após a sobrecarga de 75 g de glicose. Estabeleceu-se assim o novo critério diagnóstico de *diabete mellitus* gestacional, quando a paciente apresentar um ou mais valores maiores ou iguais aos valores de referência do teste de tolerância oral a glicose (TTGO) 75G, ou seja, glicemia de jejum (GJ) ≥ 92 mg/dL, de uma hora após a sobrecarga ≥ 180 mg/dL e de duas horas após a sobrecarga ≥ 153 mg/dL. Estes valores de corte foram estabelecidos pela IADPSG e correspondem a 1,75 do desvio padrão da média dos valores de glicemia obtidos no estudo HAPO. No consenso, recomenda-se ainda que as gestantes, independente dos fatores de risco, deverão ter, na primeira consulta de pré-natal, a dosagem de glicemia de jejum com o objetivo de identificar pacientes portadoras de *diabete mellitus* não diagnosticadas previamente a gestação (*Overt Diabete*) e de *diabete mellitus* gestacional (IADPSG, 2010).

O *diabete mellitus* é uma das principais indicações de avaliação da maturidade pulmonar fetal, tanto pelo fato da doença postergar a maturidade

pulmonar fetal, como pelo fato de estar associada a complicações que podem levar a interrupção da gestação antes do termo (Berkowitz e cols., 1997; Langer, 2002; Piper, 2002).

A fidelidade dos testes de maturidade pulmonar fetal em mães diabéticas tem sido debatida. A incidência de SDR é maior em filhos de mães diabéticas (Grenach e cols., 2006) e RN de mães diabéticas apresentam até vinte vezes mais chance de desenvolver SDR, quando comparados com RN de mães não diabéticas (Moore, 2002). No entanto, o mecanismo responsável por essa associação não é ainda bem entendido. Melhorias no controle glicêmico e datação da gestação por ultrassom tem diminuído este debate (Berkowitz, e cols., 1997; Langer, 2002; Piper, 2002). Nos últimos anos há relatos de que, para mães diabéticas com bom controle e com idade gestacional bem datada, os testes de maturidade pulmonar fetal poderiam ser realizados com as mesmas indicações das mães não diabéticas (Berkowitz, e cols., 1997; Langer, 2002; Piper, 2002). Os testes de avaliação da maturidade pulmonar fetal poderiam ser realizados somente em mães que não preenchem esses critérios, ou seja, com *diabete mellitus* mal controlada, ou com *diabete mellitus* bem controlada, porém com idade gestacional incerta.

1.3.2. HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

A hipertensão arterial complica 7 a 10% de todas as gestações, incidência que pode variar de acordo com a população estudada e os critérios utilizados para o diagnóstico. É a complicação médica mais comum na gestação e a principal causa de morbimortalidade materna e perinatal. Para o consenso do *National High Blood Pressure Education Program* (NHBPEP), reafirmado em 2000, é fundamental diferenciar a hipertensão que antecede a gestação daquela é que condição da mesma. O impacto dessas duas condições sobre mãe e feto é diferente, assim como seu controle (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000).

Define-se como hipertensão arterial quando a pressão sistólica atinge valor ≥ 140 mmHg e/ou a pressão arterial diastólica atinge valor ≥ 90 mmHg, em duas medidas com intervalo de pelo menos quatro horas. A classificação das diferentes formas de manifestação da hipertensão arterial durante a gestação é: hipertensão arterial crônica, pré-eclampsia/eclampsia, hipertensão arterial sobreposta por pré-eclampsia e hipertensão gestacional.

1.3.2.1. HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA CRÔNICA

Definida como a hipertensão arterial que está presente antes da ocorrência da gestação ou diagnosticada antes da 20ª semana da mesma. A hipertensão arterial diagnosticada após a 20ª semana, e que se mantém após a 12ª semana pós-parto, também é classificada como hipertensão arterial crônica.

1.3.2.2. PRÉ-ECLÂMPsia/ECLÂMPsia

É definida como a presença, após a 20ª semana de gestação (ou antes, em caso de doença trofoblástica gestacional), de hipertensão arterial acompanhada de proteinúria, em gestante sem história de hipertensão arterial. Na ausência de proteinúria também se considera pré-eclâmpsia, quando o aumento da pressão arterial é acompanhado de sintomas como cefaleia, borramento visual e dor abdominal, ou por valores anormais nos testes laboratoriais, especialmente contagem baixa de plaquetas e alteração da função hepática (Lain e cols., 2002).

A fisiopatologia da pré-eclâmpsia envolve tanto fatores maternos como fetais, anormalidade na no desenvolvimento da vascularização da placenta no início da gestação pode resultar em hipoperfusão/hipóxia/isquemia placentária, que podem levar a liberação de fatores angiogênicos na circulação materna,

como sFlt-1, VEGF e PlGF, alterando a função endotelial sistêmica materna, causando hipertensão e outras manifestações da doença (Widmer e cols., 2007). A isquemia placentária libera fatores, como citocinas pró-inflamatórias, que iniciam a cascata de eventos celulares e moleculares, determinando a disfunção endotelial dos vasos, com aumento da resistência vascular (Kharfi e cols., 2003).

A pré-eclampsia compromete todos os órgãos e sistemas maternos, principalmente o sistema vascular, hepático, renal e cerebral (Pridjian e cols., 2002). Nos casos de pré-eclampsia é importante identificar a gravidade dos casos, pois os prognósticos materno e fetal dependem da conduta. Assim um ou mais dos critérios a seguir identificam um caso de pré-eclampsia grave (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000; Sibai e cols., 2005):

- Pressão arterial $\geq 160 \times 110$ mmHg
- Proteinúria $\geq 2\text{g}/24\text{horas}$ (ou $> 2+$ em amostra de urina)
- Creatinina sérica $> 1,2$ mg%
- Sintomas de eclâmpsia iminente
- Eclâmpsia (crise convulsiva)

- Dor epigástrica ou no hipocôndrio direito
- Aumento de enzimas hepáticas (AST, ALT)
- Plaquetomenia ($< 100.000/\text{mm}^3$)
- Anemia hemolítica microangiopática

Eclâmpsia é definida pela manifestação de uma ou mais crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas e/ou coma, em gestante com hipertensão gestacional ou pré-eclâmpsia, na ausência de doença neurológica (Sibai e cols., 2005). Pode ocorrer durante a gestação, no trabalho de parto ou no puerpério imediato. Metade dos casos acontece em gestações pré-termo (Douglas e cols., 1994) e 25% no puerpério imediato (>48 horas) (Lubarsky e cols., 1994).

A eclâmpsia geralmente é precedida por sinais e sintomas de iminência como distúrbios do sistema nervoso central (cefaléia occipital, torpor, convulsões, obnulação, alteração do comportamento), visuais (escotomas, visão embaçada, amaurose) e gástricos (náuseas, vômitos, dor no hipocôndrio direito ou no epigástrico). Duas teorias explicariam as alterações cerebrais que determinam a crise convulsiva: na primeira, em resposta à hipertensão grave, ocorreria vasoespasmó com redução do fluxo sanguíneo cerebral, resultando em isquemia, edema citotóxico e eventual infarto tecidual. Na segunda teoria, a elevação brusca da pressão arterial causaria perda da capacidade de

autorregulação vascular cerebral. No capilar, ocorreria rotura da pressão distal causando aumento da pressão hidrostática, hiperperfusão e extravasamento de plasma e hemácias, determinando edema angiogênico (Zeeman e cols., 2009).

A incidência de eclâmpsia é variável, predominando em países em desenvolvimento. De modo geral, ocorre em 1,3 para cada 1.000 partos, variando de 0,6 nos países desenvolvidos até 4,5 nos países em desenvolvimento (Abbade, 2005).

1.3.2.3. HIPERTENSÃO ARTERIAL CRÔNICA SOBREPOSTA POR PRÉ-ECLÂMPSIA

É definida pela ou pela ocorrência de hipertensão crônica sem proteinúria antes da 20ª semana de gestação, que inicia com proteinúria após a 20ª semana de gestação; ou gestante hipertensa crônica com manifestação de proteinúria significativa na primeira metade da gestação e após a 20ª semana começa com aumento da pressão arterial, da proteinúria, presença de trombocitopenia ou alteração de enzimas hepáticas (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000).

1.3.2.4. HIPERTENSÃO GESTACIONAL

Patologia definida pela presença, após a 20ª semana de gestação, de hipertensão arterial sem proteinúria, em gestante sem história de hipertensão arterial. Doze semanas após o parto, gestantes classificadas como portadoras de hipertensão gestacional serão novamente avaliadas e esta renomeada como hipertensão transitória, se a pressão arterial retornou aos valores normais, ou como hipertensão arterial crônica, se os valores permaneceram elevados (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000; Robert JM, e cols., 2003).

Em geral, para casos não graves de doenças hipertensivas gestacionais pré-termo, a tendência é aguardar o termo ou assegurar-se da maturidade pulmonar fetal, para reduzir o risco de morte neonatal ou morbidade grave pela prematuridade, sendo recomendado pelo *American College of Obstetricians and Gynecologists*, a aplicação de testes para avaliar o bem-estar fetal, até que se defina a interrupção da gestação (ACOG, 1990). Já nos casos moderados a grave, ou próximos de termo, o parto costuma ser recomendado para assegurar o bem-estar materno e fetal.

As diversas modalidades de doença hipertensiva na gestação são também uma indicação de interrupção da gestação antes do termo e, por consequência, de avaliação da maturidade pulmonar fetal.

1.3.2.5. COLESTASE GESTACIONAL

A colestase intra-hepática da gestação é uma patologia que ocorre no segundo e terceiro trimestre da gestação, e está caracterizada por prurido e elevação da concentração dos ácidos biliares.

A incidência de colestase gestacional é variável (de 0,1 a 15,6%), e as razões ainda não são bem esclarecidas (Bacq, 1999). Vários fatores estão envolvidos na causa desta doença, como alterações genéticas, que poderiam explicar a incidência aumentada em alguns grupos étnicos ou familiares, devido a mutações heterozigóticas nos genes ABCB4 ou MDR3, por exemplo (Arrese e cols., 2008).

A ocorrência de colestase no terceiro trimestre da gestação onde ocorre pico de estrogênio leva a uma associação causal entre eles, levando-se também em consideração uma maior incidência em gestações gemelares onde há uma maior circulação de estrogênios (Gonzales e cols., 1989). A colestase gestacional também está associada às alterações no metabolismo da progesterona, e a administração de progesterona talvez seja um fator de risco (Meng e cols., 1997). Fatores ambientais talvez estejam presentes também, mas ainda não estão bem definidos.

A manifestação clínica típica da colestase gestacional é o prurido intolerável. Geralmente generalizado, mas predominante nas palmas das mãos e sola dos pés, com piora a noite, e geralmente precedendo as alterações laboratoriais (Kenyon e cols., 2002). Dor abdominal, encefalopatia ou outros estigmas de falência hepática são sintomas raros. O exame físico é inespecífico, eventualmente identificando-se lesões cutâneas por coçadura.

A elevação dos ácidos biliares é a primeira e eventualmente a única alteração laboratorial. Também podem ser observadas elevação das bilirrubinas e da fosfatase alcalina. A gama glutamiltranspeptidase (GGT) está normal ou discretamente elevada, o que não é usual nas outras formas de colestase não gestacionais (Bacq, 1999). O diagnóstico é baseado na história de prurido no segundo ou terceiro trimestre associado aos achados laboratoriais.

O principal medicamento usado no tratamento é o ácido ursodesoxicólico (Palma e cols., 1997), podendo ainda ser usados hidroxizine e colestiramina.

O prognóstico materno é bom, com o prurido desaparecendo nos primeiros dias pós-parto, com normalização dos exames laboratoriais. A recorrência em gestação seguinte é de 60-70%.

Em contraste ao bom prognóstico materno, a colestase gestacional está associada ao mau prognóstico fetal, estando associada à prematuridade, líquido amniótico meconial, morte intrauterina e aumento do risco de síndrome do desconforto respiratório (Becq e cols., 1997). Alguns estudos sugerem que a interrupção da gestação seja feita com 37 semanas, já que 90% das mortes fetais intraútero ocorrem na 38ª semana de gestação (Williamson e cols., 2004), sendo, então, muitas vezes necessário avaliar maturidade pulmonar fetal antes de interromper a gestação.

1.4 . PATOLOGIAS FETAIS

1.4.1. CRESCIMENTO INTRAUTERINO RESTRITO

Um dos importantes enfoques do cuidado pré-natal é determinar se o feto está sobre risco de restrição de crescimento e identificar os fetos restritos. Acredita-se que a restrição de crescimento intra-útero esteja presente no passado de adultos com hipertensão, hiperlipidemia, doença coronariana e *diabete mellitus*, além de doenças relacionadas ao período perinatal (Pilliod e cols., 2012).

A definição mais comum para restrição de crescimento é peso fetal abaixo do percentil 10 para a IG (Battaglia e cols., 1967), embora outra definição que emprega uma variedade de critérios tem sido defendida como o crescimento fetal abaixo do percentil 5 ou do percentil 3 (Seeds e cols., 1998). Esta definição é problemática, pois não distingue fetos constitucionalmente pequenos, dos pequenos por um processo patológico que os impede de alcançar seu potencial genético de crescimento. A restrição de crescimento pode ser classificada em simétrica ou assimétrica.

- Simétrica: corresponde a 20-30% dos CIUR, refere-se a um padrão de crescimento em que todos os órgãos fetais são diminuídos proporcionalmente devido ao comprometimento global de hiperplasia celular fetal precoce.
- Assimétrica: é caracterizada por uma diminuição relativamente maior em tamanho da circunferência abdominal (tamanho do fígado e da gordura subcutânea) do que a da cabeça e é encontrado em 70 a 80%. Crescimento fetal assimétrico é provável resultado da capacidade do feto em se adaptar a um ambiente hostil, redistribuindo o fluxo de sangue em favor de órgãos vitais (cérebro, coração, placenta) (Bahado-Singh e cols., 1999).

Os principais fatores de risco são: mães constitucionalmente pequenas, nutrição materna deficiente, privações socioeconômicas (uso de álcool, drogas e desnutrição), infecções maternas e fetais, malformações congênitas, aneuploidias cromossômicas, fármacos com efeitos teratogênicos sobre o feto, doença vascular (especialmente a pré-eclampsia), doença renal crônica, *diabete mellitus* pré-gestacional, hipóxia crônica, anemia, anormalidades da placenta e do cordão e síndrome do anticorpo antifosfolípido, por exemplo (Wilcox e cols., 1995; Gainer e cols., 2005).

A avaliação é realizada através de exame clínico, com a medida da altura do fundo uterino, que serve com uma ferramenta de triagem, pois sua principal desvantagem é a imprecisão (Jelks e cols., 2007), e a avaliação ultrassonográfica, que é o método mais comumente utilizado para o diagnóstico de crescimento fetal restrito, utilizando-se o peso fetal, através de diversas medidas biométricas fetais (Platz e cols., 2008).

A conduta para fetos com diagnóstico próximo ao termo é o nascimento, e para gestações antes de 34 semanas, é preconizado que, se houver líquido amniótico normal, sejam feitos exames de bem-estar fetal, e que se observe até que se atinja a maturidade pulmonar fetal, que poderá ser avaliada através de testes de análise por amniocentese (Owen e cols., 2001).

1.5 . AMNIOCENTESE

Amniocentese é a técnica utilizada para retirar líquido amniótico da cavidade uterina via transabdominal, utilizando-se uma agulha. Testes laboratoriais podem ser feitos para analisar a saúde fetal através do líquido amniótico que é composto de urina, secreções, células exfoliadas e transudatos. As indicações mais comuns para a realização da amniocentese são o estudo genético e a avaliação da maturidade pulmonar fetal. Outras indicações menos frequentes são: avaliação de infecção fetal, anemia hemolítica, hemoglobinopatia ou defeitos do tubo neural. A técnica também pode ser utilizada para reduzir o volume de líquido amniótico nos casos de polidramnia ou síndrome da transfusão feto-fetal, ou pra reduzir a pressão do líquido amniótico em casos de prolapso de membranas fetais no segundo trimestre a fim de facilitar a realização da cerclagem de urgência (Seeds, 2008).

Para o diagnóstico genético pré-natal a amniocentese pode ser realizada a partir da 11ª semana de gestação, porém apresenta melhor desempenho entre a 15-17ª semanas. Procedimentos antes da 15ª de gestação estão mais associados a perdas fetais e complicações, devendo ser evitadas (ACOG, 2007).

Já a avaliação da maturidade pulmonar fetal é realizada usualmente a partir da 32ª semana de gestação, porque antes desta idade gestacional a

maturidade pulmonar é improvável e a taxa de falsos-maduros é maior nas idades mais precoces (ACOG 1999).

Uma ultrassonografia obstétrica é realizada primeiramente para avaliar a vitalidade fetal, biometria e localização placentária. A melhor localização para inserção da agulha é então escolhida, sendo descrito em muitos estudos, um maior risco de complicações fetais em exames realizados por via transplacentária (Bombard e cols., 1995). O abdome materno é limpo com solução antisséptica e coberto com campo estéril. Anestesia local é opcional, mas usualmente desnecessária, a maioria das mulheres não sentem ou sentem pouco desconforto durante o procedimento, sendo a administração do anestésico por si só um pouco dolorosa, e nenhuma intervenção tem provado reduzir este desconforto (Harris e cols., 2004).

Fatores de risco para dor durante a realização do procedimento são: história materna de cólicas menstruais, amniocentese prévia, ansiedade e inserção da agulha na parte inferior do útero (Harris e cols., 2004). A agulha utilizada é a 20 ou 22 de gauge, geralmente. A utilização da ultrassonografia simultânea em vez de avaliação pré-amniocentese não tem sido associada com uma taxa reduzida de perda fetal em estudos controlados. Entretanto, a monitorização continua com visualização direta da agulha durante o procedimento evita lesão fetal direta e reduz o número de punções e a incidência de fluído sanguinolento (Seeds, 2008).

Aspira-se de 20 a 30 ml de líquido amniótico com agulha estéril. Esta quantidade pode variar de acordo com a idade gestacional da punção, uma vez que o líquido amniótico aumenta durante toda a gestação.

Após o procedimento os batimentos cardíacos fetais devem ser avaliados pela ultrassonografia. Cólicas uterinas, *spotting*, e mínima perda líquida vaginal podem ocorrer imediatamente após o procedimento. Devendo as pacientes ser instruídas a reportar qualquer perda líquida ou sangramento persistente, bem como contrações ou febre. Não há necessidade de limitação de atividade materna após o procedimento (Harris e cols., 2004).

As maiores complicações da amniocentese são: ruptura de membranas, lesão fetal direta ou indireta, infecção e morte fetal. Complicações maternas relacionadas ao procedimento são raras e ocorrem em menos de 1/1000 procedimentos (Mujezinovic e cols., 2012). A segurança da amniocentese realizada no terceiro trimestre de gestação é reportada em inúmeros estudos observacionais não controlados. Estes estudos demonstram menos de 1% de complicações obstétricas, como parto de urgência ou decisão de interrupção da gestação antes da conclusão dos testes de avaliação da maturidade pulmonar fetal (Stark e cols., 2000).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbade JF. Esquemas de Zuspan versus esquema alternativo com sulfato de magnésio na prevenção e tratamento da eclâmpsia – comparação da concentração sérica do magnésio. [tese de doutorado]. Botucatu. Universidade Estadual Paulista, 2005.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. ACOG Committee Opinion No. 402. Obstet Gynecol 2008; 111:805–7.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Invasive prenatal testing for aneuploidy. ACOG Practice Bulletin No. 88. December 2007. Obstet Gynecol 2007; 110: 1459.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Antepartum fetal surveillance. ACOG Practice Bulletin No. 9. October 1999.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Assessment of fetal lung maturity. ACOG educational bulletin. Int J Gyn Obstet 1996; 56:191–8.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of *diabete mellitus*. *Diabete Care* 2014; 37 Suppl 1: s81
- Amorim MMR, Faundes A, Santos LC, Azevedo E. Acurácia do teste de Clements para avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestantes com doença hipertensiva específica da gestação. Rev Bras Ginecol Obstet [online]. 1998, vol.20, n.5, 253-260.

- Anceschi MM, Piazzze GJJ, Unfer V, Di Benedetto MR, Cosmi EV. A comparison of shake test, optica density, L/S ratio (planimetric and stechiometric) and PG for the assessment of fetal lung maturity. J Perinat Med. 1996; 24: 355-62.
- Arrese M, Macias RI, Briz O. Molecular pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy. Expert Rev Mol Med. 2008;10:e9.
- Ashwood ER, Oldroyd RG, Palmer SE. Measuring the number of lamellar body particles in amniotic fluid. Obstet Gynecol. 1990 Feb;75(2):289-92.
- Ashwood ER. Standards of laboratory practice: evaluation of fetal lung maturity. National Academy of Clinical Biochemistry. Clin Chem 1997;43:211.
- Avery ME, Mead J. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. Am J Dis Child. 1959; 97:517-22.
- Bacq Y. Intrahepatic Cholestasis of pregnancy. Clin Liver Dis. 1999, 3:1.
- Bahado-Singh RO, Kovanci E, Jeffres A. The Doppler cerebroplacental ratio and perinatal outcome in intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 1999; 180:750.
- Balchin I, Whittaker JC, Lamont RF, Steer PJ. Timing of planned cesarean delivery by racial group. Obstet Gynecol. 2008; 111:659.
- Ballard PL. Hormonal control of lung maturation. Baillieres Clin Endocrinol Metab. 1989 Nov;3(3):723-53.

- Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr*. 1967; 71:159.
- Becq Y, Sapey T, Brechot MC. Intrahepatic cholestasis of pregnancy a French prospective study. *Hepatology*. 1997; 26:358.
- Berkowitz K, Reyes C, Saadat P, Kjos SL. Fetal lung maturation. Comparison of biochemical indices in gestational diabetic and nondiabetic pregnancies. *J Reprod Med*. 1997; 793-800.
- Besnard AE. Lecithin/sphingomyelin ratio and lamellar body count for fetal lung maturity: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013 Mar 4.
- Bombard AT, Powers JF, Carter S. Procedure-related fetal losses in transplacental versus nontransplacental genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 172:868.
- Breathing in America: disease, progress, and hope, Schraufnagel DE, editor. Respiratory distress syndrome of the newborn. The American Thoracic Society: 2010.
- Clements JF, Platzker ACG, Tierney DF. Assessment of the risk respiratory distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. *N Engl J Med*. 1972; 286: 1077-81.
- Coapman –Hankin RA, Kiechle FL, Epstein E. Three methods compared for determining phosphatidylglycerol in amniotic fluid. *Clin Chem*. 1985; 31:1374.

- Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD. Prevalence of *diabete* and high risk for *diabete* using A1C criteria in U.S. population in 1988-2006. *Diabete Care*. 2010; 33:562.
- Crowley P. WITHDRAWN: Prophylactic corticosteroids for preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(3).
- Dalence CR, Bowie LJ, Dohnal JC, Farrell EE, Neerhof MG. Amniotic fluid lamellar body count: a rapid and reliable fetal lung maturity test. *Obstet Gynecol*. 1995 Aug;86(2):235-9.
- Douglas KA, Redman CW. Eclampsia in the United Kingdom. *Br Med J*. 1994;309:1395-400.
- Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive pulse counting: relationship to measures of fetal lung maturity. *Clin Chem*. 1989 Apr;35(4):612-6.
- Gainer j, Alexander J, McIntire D. Fetal growth velocity in women who develop superimposed preeclampsia. Presented at the 25th Annual Meeting of the Society for Maternal-fetal Medicine, Reno, Nevada, February 7-12,2005.
- Garite TJ, Yabusaki KK, Moberg LJ, Symons JL, White T, Itano M, et al. A new rapid slid agglutination test for amniotic fuid phosphatidylglycerol: laboratory and clinical correlation. *Am J Obstet Gynecol*. 1983; 147: 681-6.

- Gerten KA, Coonrod DV, Bay RC, Chambliss LR. Cesarean delivery and respiratory distress syndrome: does labor make a difference? *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Sep;193(3 Pt 2):1061-4.31.
- Gluck L, Kulovich MV, Borer RC, Keidel WN. The interpretation and significance of the lecithin-sphingomyelin ratio in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 1974 Sep;120(1):142-55.
- Gluck L, Kulovich MV. Lecithin-sphingomyelin ratios in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1973 Feb 15;115(4):539-46.
- Golombek. Effects of surfactant treatment on gas-exchange and clinical course in near-term newborns with RDS. *J Perinat Med.* 2000; 28:436-42.
- Gonzales MC, Reyes H, Arrese M. Intrahepatic cholestasis of pregnancy in twin pregnancies. *J Hepatol.* 1989; 9:84.
- Grenache DG. Fetal lung maturity. *Clinical Biochemistry.* 39 (2006) 1-10.
- Guoyang Luo, MD, PhD, Errol R. Norwitz, MD. Revisiting Aminiocentesis For Fetal Lung Maturity After 36 Weeks' Gestation. *Rev Obstet Gynecol.* 2008;1(2):61-68.
- Hamilton PR, Hauschild D, Broekhuizen FF, Beck RM. Comparison of lecithin: sphingomyelin ratio, fluorescence polarization, and phosphatidylglycerol in the amniotic fluid in the prediction of respiratory distress syndrome. *Obstet Gynecol.* 1984 Jan;63(1):52-6.
- Harris A, Monga M, Wicklund CA, et al. Clinical correlates of pain with amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:542.

- International Association of *Diabete* and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. International Association of *Diabete* and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabete Care*. 2010; 33(3):676-82.
- Jelks A, Cifuents R, Ross MG. Clinician bias in fundal height measurement. *Obstet Gynecol*. 110:892, 2007.
- Jobe AH, Creasy RK, Resnik R, Saunders WB. Fetal lung development, testes for maturation, induction of maturation and treatment. *Maternal-Fetal Medicine*. Philadelphia 1999. P.418.
- Kenyon AP, Piercy CN, Girling J. Obstetric Cholestasis, outcome with active management a series of 70 cases. *BJOG* 2002; 109:262.
- Kharfi A, Giguère Y, Sapin V, Massé J, Dastugue B, Forest J. Trophoblastic remodeling in normal and preeclmptic pregnancies: implication of cytokines. *Clin Biochem*. 2003; 36:323-31.
- Klos. Prospective delivery of reality dated term infants of diabetic mothers without determination of fetal lung maturity: comparison to historical control. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2002; 12: 433-7.
- Kung HC, Hoyert DL, Xu J, Murphy SL. Deaths: final data for 2005. *Natl Vital Stat Rep*. 2008;56:1–120.
- Lain KY, Roberts JM. Contemporary concepts of the pathogenesis an management of preeclampsia. *JAMA*. 2002; 287:3183.

- Langer O. The controversy surrounding fetal lung maturity in *diabete* in pregnancy: a re-evaluation. J Mater Fetal Neonatal Med. 2002;12:428–32.
- Leveno, Kenneth J. Manual de Obstetrícia de Williams – 22. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2010.
- Lubarsky SL, Barton JR, Friedman SA, Nasareddine S, Ramadan MK, Sibai BM. Late postpartum eclâmpsia revisited. Obst Gynecol. 1994; 83:502-5.
- Meng LJ, Reye H, Palma J. Effects os ursodeoxycholic acido n conjugated bile acids and progesterone metabolites in serum and urine of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. J hepatol. 1997;26:358.
- Moore TR. A comparison of amniotic fluid fetal pulmonary phospholipids in normal and diabetic pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2002;641-50.
- Mujezinovic F, Alfirevic Z. Technique modifications for reducing the risk from amniocentesis or chorionic villus sampling. Cochrane Database Syst Rev 2012; 8:CD008678.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Report of National High Blood Pressure Education Program Working Group on high Blood Pressure in Pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2000;183 (1):S1-S22.

- Neerhof Mg, Haney EL, Silver RK. Lamellar body count compares with traditional phospholipid analysis as an assay for evaluating fetal lung maturity. *Obstet Gynecol* 2001; 97:305.
- Nomura RMY, Miyadahira S, Francisco RVP, Okatani D, Zugaib M. Avaliação da maturidade fetal em gestações de alto risco: análise dos resultados de acordo com a idade gestacional. *Rev Ass Med Brasil*. 2001; 47(4):346-51.
- Owen P, Maharaj S, Khan KS. Interval between fetal measurements in predicting growth restriction. *Obstet Gynecol*. 2001; 97:499.
- Palma J, Reyes H, Ribalta J. Ursodoxycholic acid in the treatment of cholestasis of pregnancy: a randomized double-blind study controlled with placebo. *J hepatol*. 1997;27:1022.
- Pettitt DJ, Knowler WC, Bair HR, Bennett PH. Gestacional *diabete*: infant and maternal complications of pregnancy in relation to third-trimester glucose tolerance in the Pima Indians. *Diabete Care*. 1980; 3:458
- Pilliod RA, Cheng YW, Snowden JM. The risk of intrauterine fetal death in the small-for-gestational-age fetus. *Am J Obst Gynecol*. 2012; 207:318.
- Piper JM. Lung maturation in *diabete* in pregnancy: if and when to test. *Semin Perinatol*. 2002 Jun; 26(3):206-9.
- Platz E, Newman R. Diagnosis of IUGR: Traditional biometry. *Semin Perinatol*. 2008; 32:140.

- Pridjian G, Puschett JB. Preeclapsia. Part 1: clinical and pathophysiologic considerations. *Obstet Gynecol Surv.* 2002; 57:598-618.
- Robert JM, Person GD, Cutler JA, Lindheimer MD. Summary of the NHLBI Working Group on Reserch on Hipertension during Pregnancy. *Hyperten. Pregnancy.* 2003; 22:109-27.
- Roberts D, Dalziel S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*; 2006.
- Roiz-Hernandez J, Navarro-Sollis E, Carreon-Valdez E. Lamellar bodies as a diagnostic test of fetal lung maturity. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002 Jun; 77(3):217-21.
- Seeds JW, Peng T. Impaired growth and risk of fetal death: is the tenth percentile the appropriate standard? *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 178:658.
- Sibai BM, Dekker G, Kupfermine M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005; 365:785-99.
- Soll RF, Morley CJ. Prophylactic versus selective use of surfactant for preventing morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000(2).
- Solomon CG, Willet WC, Carey VJ. A prospective study of pregravid determinants of gestacional *diabete* mellitus. *JAMA.* 1997; 278: 1078.

- Sotiriadis A, Makrydimas G, Papatheodorus S, Iannidis JPA. Corticosteroids for preventing neonatal respiratory morbidity after elective caesarean section at term. Cochrane Database Syst Rev. Issue 7, 2010.
- Stark CM, Smith RS, Lagrandeur RMI. Need for urgent delivery after third-trimester amniocentesis. Obstet Gynecol. 2000; 95:48.
- Sweet DG. European Consensus Guideline on the Management of Neonatal Respiratory Distress Syndrome in Preterm Infants. Neonatology 2010; 97:402-417 .
- Ventolini G, Buchenroth B, McCluskey K, Belcastro MR, Hood DL. Fetal Lung Maturity Testing and Neonatal Respiratory Complications in Women with Type 1 *Diabete* mellitus Electively Delivered before 39 Weeks gestation. J Women's Health Care. 2012; 1:111.
- Widmer M, Villar WP, Benigni A. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. Obstet Gynecol. 2007; 109:168.
- Wijnberger LD, Huisjes AJ, Voorbij HA, Franx A, Bruinse HW, Mol BW. The accuracy of lamellar body count and lecithin/sphingomyelin ratio in the prediction of neonatal respiratory distress syndrome: a meta-analysis. BJOG. 2001;108(6):583-8.
- Wilcox MA, Smith SJ, Johnson IR. The effect of social deprivation on birthweight, excluding physiological and pathological effects. Br J Obstet Gynaecol. 102; 918,1995.

- Williamson C, Hems LM, Goulis DG. Clinical outcome in a series of cases of obstetric cholestasis identified via a patient support group. BJOG. 2004; 111:676.
- Zanardo. Neonatal respiratory morbidity risk and mode of delivery at term: influence of timing of elective cesarean delivery. Acta Paediatr. 2004; 93: 643-7.
- Zeeman MD, Roberts JM, Cunningham FG. Cerebrovascular (patho) physiology in preeclampsia/eclâmpsia. In: Lindheimer et al. Chesley's Hypertensive disorders in pregnancy. 3.ed. San Diego, Academic Press, 2009; 227-227.
- Zhao Q. Predicting respiratory syndrome using gestational age and lamellar body cont. Clin Biochem. 2013.
- Zugaib, Zugaib Obstetrícia: Avaliação da maturidade pulmonar. 2ª edição 2008 Ed Manole.

3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

3.1. JUSTIFICATIVA

É conhecido que algumas condições clínicas aceleram a maturidade pulmonar fetal, por exemplo, a hipóxia fetal crônica, enquanto outras, como o *diabete mellitus*, estão associadas a um atraso da maturação pulmonar. Por outro lado, algumas situações levam à necessidade de interrupção da gestação pré-termo, tornando-se de suma importância a realização de testes que possam prever se há ou não maturidade pulmonar fetal. A avaliação da maturidade pulmonar fetal, através da análise do LA, pode ser realizada antes da resolução da gestação, principalmente naquelas pré-termo, evitando-se assim, em algumas situações, o parto prematuro iatrogênico (Avery, 1959; Nomura e cols., 2001).

A avaliação da maturidade pulmonar fetal, através da análise do líquido amniótico, principalmente nas gestações pré-termo, é o principal exame disponível hoje, proporcionando, com a análise dos componentes dos surfactantes pulmonares, presentes ou não no líquido amniótico, a prevenção de doenças neonatais importantes como a SDR, que pode levar o recém-nascido à insuficiência respiratória progressiva e a outras complicações importantes, até mesmo à morte (Avery; 1959; Nomura e cols., 2001;).

A SDR, associada à produção insuficiente de surfactante pelo pulmão fetal, é a maior causa de morte em neonatos. Sua frequência é maior em neonatos prematuros, devido à produção de surfactantes ser maior no final da gestação (Nomura e cols., 2001). É a causa mais comum de falência respiratória em neonatos, sendo inversamente proporcional a idade gestacional do momento do nascimento, sendo o risco > 60% com 29 semanas de gestação e < 5 % após a 37ª semana (Avery, 1959). Sabe-se também, que algumas condições clínicas maternas podem acelerar ou retardar a maturidade pulmonar fetal, tal como o *diabete mellitus*. Além da prematuridade, o *diabete mellitus* materno (Soll e cols., 2000) e a cesariana sem trabalho de parto (Zugaib, 2008) aumentam o risco da ocorrência da SDR. Em contrapartida, o uso de corticóide pré-natal atua como principal fator protetor (Guoyang e cols., 2008; Leveno e cols., 2010).

Sendo assim, a avaliação da maturidade pulmonar fetal, através da análise dos componentes do líquido amniótico nas pacientes nas quais haja suspeita de atraso da maturidade pulmonar ou necessidade de interrupção da gestação antes do termo, particularmente nas gestações com complicações maternas e/ou fetais, é necessária como estratégia de promover melhor preparo da equipe para o atendimento do neonato, a fim de evitar complicações como a SDR (Moore, 2002). Em algumas situações é necessário interromper a gestação antes do termo, acarretando riscos para o neonato, sendo de grande importância realizar testes que possam predizer com razoável certeza a maturidade pulmonar fetal. Considerando a importância dos testes de

maturidade e poucos estudos realizados no nosso meio, o nosso estudo se justifica por avaliar o desempenho dos testes de maturidade pulmonar fetal num hospital público de Porto Alegre.

3.2. OBJETIVO PRINCIPAL

Avaliar os resultados da pesquisa de maturidade pulmonar fetal, em gestações de alto risco, através da análise do líquido amniótico, obtido por amniocentese, comparando os resultados com a idade gestacional no momento da punção e os desfechos neonatais.

3.3. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar os dados demográficos das gestantes que realizaram amniocentese para avaliar a maturidade pulmonar fetal.
- Avaliar as principais indicações de amniocentese para avaliar a maturidade pulmonar fetal.

- Avaliar a idade gestacional (IG) na punção e na interrupção e os desfechos neonatais (peso, Apgar, oxigenioterapia, uso de surfactante, e necessidade de internação em Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal - UTI), considerando os resultados dos testes de maturidade.
- Estabelecer a sensibilidade, especificidade, o valor preditivo positivo e negativo da relação L/E.
- Estabelecer a sensibilidade, especificidade, o valor preditivo positivo e negativo do fosfatidilglicerol.
- Estabelecer a sensibilidade, especificidade, o valor preditivo positivo e negativo do teste de Clements.
- Verificar se a presença de maturidade nos testes diagnósticos teve influência nos desfechos fetais, tais como: complicações neonatais, uso de surfactante, uso de oxigênio e internação em UTI neonatal.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

ASSESSING FETAL LUNG MATURITY AND NEONATAL OUTCOME IN HIGH – RISK PREGNANCIES IN A TERTIARY HOSPITAL IN PORTO ALEGRE, BRAZIL

Pigatto T, Beitune PE, Arlindo EM, Grandi M, Carpes VF, Jiménez, MF.

ABSTRACT

Introduction: Respiratory Distress Syndrome (RDS) is a significant cause of morbidity and mortality, especially in premature newborns (NB). The assessment of fetal lung maturity is important to determine a safe time to end pregnancy, reducing the risk of neonatal complications.

Objectives: Evaluating performance of fetal lung maturity tests with amniotic fluid (AF) in high-risk pregnancies and evaluating the indications for puncture, gestational age (GA) at puncture and neonatal outcomes (weight, Apgar score, oxygen therapy and surfactant use).

Methods: Retrospective study evaluating 105 high-risk pregnancies of Maternidade Mário Totta/Hospital Santa Casa de Porto Alegre between January 1999 and March 2013. We evaluated lecithin/sphingomyelin ratio (L/S), phosphatidylglycerol and Clements tests. The samples were collected by amniocentesis.

Results: The main indication for evaluation of fetal lung maturity was *diabetes* 80 (76.2%). The mean (standard deviation - SD) GA at the time of puncture was 37.1 (1.24) weeks. The mean (SD) weight of NB was 3325 (616) grams.

Phosphatidylglycerol showed higher specificity (Sp) and positive predictive value (PPV) for all outcomes analyzed.

Considering the NB surfactant use, the Receiver Operating Characteristic curve (ROC curve) showed a cutoff point of < 1.35 for L/S ratio for lung immaturity.

Conclusion: We observed that phosphatidylglycerol was the best predictive test. We defined a new cutoff of <1.35 for lung immaturity with L/S ratio. The assessment of fetal lung maturity is useful in the management of high-risk pregnancy, but it is not the only parameter in deciding the moment of birth, as premature birth is correlated to various other than RDS, yet serious, complications.

Keywords: fetal lung maturity, Clements test, phosphatidylglycerol, lecithin, sphingomyelin.

INTRODUCTION

The fetal pulmonary system is one of the last to become functional and structurally mature (Balchin et al., 2008). Race seems to affect fetal lung maturity, which is reached earlier in blacks and South Asians. As an immature pulmonary system does not oxygenate the NB properly, premature birth can lead to significant neonatal morbidity and mortality (Balchin et al., 2008). Therefore, to determine the best time of delivery, fetal lung maturity has to be assessed beforehand. Several laboratory tests are available for this purpose, and all of them involve the assessment of AF and provide an indirect assessment of the likelihood of fetal lung maturity, since direct tests of fetal lung function are not possible (Parrilla et al., 1993).

Respiratory Distress Syndrome (RDS), also known as Hyaline Membrane Disease, is primarily a respiratory disease of premature infants. It is the leading cause of neonatal morbidity and mortality, affecting approximately 1% of all live births and 10% of preterm births (*The American Thoracic Society*, 2000). The risk and the severity increase with prematurity. NB under 29 weeks gestation have a 60% chance of developing RDS (Besnard et al., 2013). If there is no appropriate treatment, death can occur by progressive hypoxia and respiratory failure (Sweet et al., 2010).

RDS is caused by insufficient production of surfactant by type II pneumocytes with structural immaturity of the fetal lung (Besnard et al., 2013). Atelectasis caused by surfactant deficiency, combined with the small size of alveoli, results in perfused alveoli, but without ventilation, leading to hypoxia, hypercapnia and acidosis. These conditions produce vasoconstriction of the pulmonary arteries, which together with the right-to-left shunt through the patent ovale foramen and the ductus arteriosus decrease the pulmonary blood flow. The resulting ischemic lung injury, through leakage of serum proteins into the alveoli, which inhibit further production and action of surfactants, creates a secondary surfactant deficiency, aggravating the disease. Preventing preterm birth is the most effective way to prevent RDS (Grenache et al., 2006). Alternatively, administration of corticosteroids to the mother can be used to accelerate the production of surfactant (Crowley et al, 2006; Robert et al, 2006). The treatment of NB immediately after birth with endotracheal exogenous surfactant can be effective if the preterm birth cannot be avoided.

RDS clinically presents as early respiratory distress including cyanosis, grunting, tachypnea and costal retraction. Respiratory failure may develop, so that blood gas evaluation is indicated. The diagnosis can be confirmed by chest X-ray, which will have the appearance of "ground glass" and show the presence of air bronchogram.

The surfactants found in human lungs are mainly composed of phospholipids (80%), protein (10%), neutral lipids (10%). Phosphatidylcholine (lecithin), phosphatidylglycerol, and sphingomyelin phospholipids are the main (Zugaib, 2008). These are endogenous components responsible for the reduction of surface tension of the alveoli, preventing alveolar collapse, and are important to prevent RDS (Guoyang et al., 2008). The tests that may be performed to diagnose fetal lung maturity are lecithin/sphingomyelin (L/S) ratio, presence of phosphatidylglycerol and bubbles stabilization test (Clements test) (Grenache, 2006).

The L/S ratio was the first biochemical test used to assess fetal lung maturity and has become the most accepted and most frequently used type of test. Lecithin is the main pulmonary surfactant, and increases from week 28 until the end of gestation. The L/S ratio describes the relative change in the concentration of lecithin to the sphingomyelin concentration ratio in AF, as determined by thin layer chromatography (TLC). Although low, the concentration of sphingomyelin in amniotic fluid remains constant along the last quarter of the pregnancy, thus serves as an internal standard against which the concentration of lecithin can be compared (Gluck et al., 1974). The greatest difficulties in test reading occur with intermediate values, and due to the presence of blood or meconium and prolonged examination time. The test has high costs and requires great professional training too (Hamilton et al., 1984). Several studies show that the L/S ratio is a test with high sensitivity and negative predictive value. The study of Anceschi et al. (1996) showed sensitivity

(S) of 100%, specificity (Sp) of 81%, positive predictive value (PPV) of 36% and negative predictive value (NPV) of 100%.

Phosphatidylglycerol, despite its relatively low contribution to the total surfactants, has also been used to assess fetal lung maturity. The appearance of phosphatidylglycerol occurs several weeks after the onset of lecithin, and, therefore, is considered a late marker of fetal lung maturity. This test was suggested by Gluck et al. (1973) because, when associated with L/S ratio, it increases accuracy when the result is bigger than 2.0. In addition, it reduces the false negative rates, since L/S ratio has low specificity. The detection of phosphatidylglycerol is a strong indication that there will be no RDS.

The biggest advantage of phosphatidylglycerol as a marker of fetal lung maturity is the fact that it does not suffer interference in the presence of blood or meconium. It is inconvenient that the test requires long analysis time (3-5 hours) and variations in technique can affect the reproducibility and expression (Gluck et al., 1974). This is a test with high sensitivity, specificity and negative predictive values. In a study of Garite et al. (1983), the test showed S of 100%, Sp 80%, PPV 38% and NPV of 100%.

Clements test, first reported in 1972 by Clements et al., shows the ability of surfactant to maintain the form of stable bubbles due to surface tension of the air-solvent interface. This ability, coupled with the speed and low cost, turned this

test into a success. This test has excellent sensitivity, 98%, but often produces false-negative (false-immature) (Sp 85%) (Gluck et al., 1974)

A study of hypertensive patients in Instituto Materno-Infantil de Pernambuco (IMIP) determined that when tests were considered positive they have S of 87.9%, Sp 74.5%, PPV and NPV values of respectively 89.4% and 71.4%, with an accuracy of 84% (Amorim et al., 1998).

Another test used today is the lamellar body count, primarily described by Dubin (Dubin, 1989). It is able to estimate quantitatively the presence of surfactants in AF. The study showed that the greater the amount of lamellar bodies present in AF, the more likely for fetal lung maturity to have been reached. The similarity between the size of the lamellar bodies and the platelets allows using an automated hematology cell counter to determine the number of lamellar bodies present in AF, using the same parameters as platelet count (Gluck et al. 1974). The test of lamellar body count has already been suggested by several authors as a screening test for fetal lung maturity. It presents sensitivity, specificity, PPV, similar to the reference tests (Wijnberg et al., 2001). The results of studies of Roiz-Hernandez et al. (2002) on lamellar bodies in AF processed at delivery were compared with the course of RDS. The author found a sensitivity of 92.3% and specificity of 70.9%. Several studies have reported different cutoff points for assessing lung maturity, most of them, however, say the test has good sensitivity when cutoff for lung maturity of 50.000/ μ L is applied (Ventolini et al., 2012; Zhao et al., 2013).

In term pregnancies complicated with gestational *diabetes* and pre-pregnancy *diabetes*, the study of Klos et al. (2002) showed that the cesarean birth was an independent predictor of RDS (OR = 2.21, 95% CI: 2.04 to 2.27) (Klos et al., 2002).

It is also known that NB of diabetic mothers are twenty times more likely to develop RDS, compared to NB of nondiabetic mothers (Gluck et al., 1974; Moore, 2002).

For many years, the accuracy of fetal lung maturity testing in diabetic mothers has been debated. The mechanism responsible for the low rates of lung maturity in NB of diabetic mothers is not well known yet. Improvements in glycemic control and in the ultrasound dating of pregnancy have slowed this debate down (Berkowitz et al., 1997; Langer, 2002; Piper, 2002).

In recent years, there have been reports that results of fetal lung maturity tests in diabetic mothers with good control and well-dated gestational age are similar to those of nondiabetic mothers (Berkowitz et al., 1997; Langer, 2002; Piper, 2002). So that, this tests should only be indicated in cases of diabetic mothers with poor control or diabetic mothers with good control but with unconfirmed GA.

Hypertension complicates 7-10% of all pregnancies, an incidence varying according to the population studied and the criteria used for diagnosis. It is the most common medical complication in pregnancy and a leading cause of maternal and perinatal morbidity and mortality. In general, for mild cases of preterm gestational hypertensive diseases, the trend is awaiting the term or ensuring fetal lung maturity to reduce the risk of death or serious neonatal morbidity due to prematurity. According to recommendation by the *American College of Obstetricians and Gynecologists*, tests to assess fetal well-being should be administered until the termination of pregnancy is scheduled (ACOG, 1990). Now, in moderate to severe cases, or in near term cases, the delivery is usually recommended to ensure maternal and fetal well-being, not making any previous testing necessary.

Pregnancy intrahepatic cholestasis is a condition that occurs in the second/third trimester of pregnancy and is characterized by itching and increased concentration of bile acids (Kenyon et al., 2002). The incidence of gestational cholestasis is variable (from 0.1 to 15.6%) and the reasons for it are still unclear (Bacq, 1999). In contrast to good maternal prognosis, gestational cholestasis correlates to poor fetal prognosis, prematurity, meconium-stained amniotic fluid, intrauterine death, and increased risk of RDS (Becq et al., 1997). Some studies suggest pregnancy should be terminated at 37 weeks, since 90% of intrauterine fetal deaths occur at 38 weeks of gestation or more (Williamson et al., 2004).

The study of fetal lung maturity can also be used when determining gestational interruption in pregnant women diagnosed with fetal growth restriction (FGR) in uterus (Battaglia et al., 1967).

The conduct for fetuses with FGR diagnosed near the term is birth. For pregnancies under 34 weeks, the recommendation is that, if AF is normal, well-being examinations should be carried out, under observation until fetal lung maturity is reached, which may be backed by amniocentesis (Owen et al., 2001).

The assessment of fetal lung maturity is usually performed from 32 weeks of gestation through amniocentesis because before this GA lung maturity is unlikely and the rate of false-maturity is greater at younger ages (ACOG, 1999).

Major complications that might arise from amniocentesis are rupture of membranes, direct or indirect fetal injury, infection and fetal death. Maternal complications related to the procedure are rare and occur in less than 1/1000 procedures (Mujezinović et al., 2012). The safety of amniocentesis performed in the third trimester is reported in numerous observational uncontrolled studies. These studies show less than 1% of obstetric complications, such as emergency childbirth or pregnancy termination decision before fetal lung maturity test completion (Stark et al., 2000).

The aim of the study was to evaluate the results of fetal maturity in high-risk pregnancies, through the analysis of AF obtained by amniocentesis. We also aim to establish the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of lecithin/sphingomyelin ratio (L/S), phosphatidylglycerol and Clements test and verify if the presence of maturity in diagnostic tests had influence on fetal outcomes, such as neonatal complications, use of surfactant, use of oxygen and admission to neonatal intensive care unit (NICU). Moreover, we aim to evaluate the demographic data of pregnant women who underwent amniocentesis to assess fetal lung maturity, the main indications of the procedure, the GA at puncture and at birth and neonatal outcomes (weight, Apgar score, oxygen therapy, surfactant use and hospitalization in NICU).

MATERIALS AND METHODS

The results of 105 amniocentesis performed at Maternidade Mário Totta of Hospital Santa Casa de Porto Alegre from January 1999 to March 2013 were recorded and evaluated. Maternal and neonatal outcomes data were collected by consulting medical records (mothers and their NB).

We evaluated all the high-risk pregnancy patients of the ambulatory and obstetric hospitalization unit of Santa Casa de Porto Alegre who were referred to Fetal Medicine service to carry out the evaluation of fetal lung maturity. Inclusion criteria were pregnancy over 32 weeks with indication of fetal lung

maturity evaluation (maternal/gestational diseases). We excluded patients who did not undergo labor in the institution.

This is an observational retrospective cross-sectional study, which compares the results of punctures to assess fetal lung maturity with neonatal outcome in high-risk pregnancies.

The demographic maternal data evaluated were age, body mass index (BMI), GA at puncture, GA at interruption, number of pregnancies, parity and delivery route. GA was calculated by the date of the first ultrasound examination when it was performed before the 20th week.

L/S ratio, presence of phosphatidylglycerol and Clements test were assessed by examination of AF obtained by amniocentesis. The values used as reference for the L/S ratio were immature when less than 1.3, intermediate when 1.3 to 1.7 and mature levels when higher than 1.7. For phosphatidylglycerol tests, we considered the lungs immature when it was absent and mature when present in analysis. Clements test results were considered mature when it verified the presence of a complete ring of stable bubbles until the third tube, immature when the presence of bubbles could not be observed and intermediate when bubbles did not form a complete ring until the third tube. Assessment of fetal lung maturity was considered positive when at least one of the tests resulted positive for fetal lung maturation. We also

evaluated the macroscopic characteristics of amniotic fluid at the time it was collected and classified samples into clear, bloody, yellowish or meconium stained categories.

The neonatal outcomes evaluated were delivery route, Apgar scores at 1 and 5 minutes, birth weight, admission into NICU, neonatal complications and the use of surfactant.

Data were stored in the EXCEL database. Quantitative variables (age, GA, maternal weight and height, GA at puncture and at birth, parity, birth weight and Apgar at 1 and 5 minutes) were described by mean and standard deviation or median and interquartile range.

Categorical variables (neonatal complications, NICU admission, oxygen and surfactant use) were described by absolute and relative frequencies.

Diagnostic properties (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values) were calculated for the components of AF. The outcomes considered as gold standard were NICU admission, oxygen and surfactant requirement.

To compare means between groups, Student's t-test was applied. In case of asymmetry, the Mann-Whitney test was used. To compare proportions, chi-square test or Fisher exact test were used. The Receiver Operating Characteristic curve (ROC) was used to determine the cutoff points for the components of AF

The level of significance was set at 5% ($p \leq 0.05$). Analyses were performed using SPSS version 17.0.

The protocol was approved by the ethics committees of Santa Casa de Porto Alegre (protocol n. 3428/10) and Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) (protocol n. 970/12). As this is a retrospective analysis of medical records, it was not necessary to obtain consent forms. Data were used only for research purposes; secrecy was maintained on the information gathered.

RESULTS

Mean and standard deviation (SD) age among the 105 patients who were submitted to amniocentesis was 31.9 (6.8) years. BMI mean (SD) is 35.1 (7.2) kg/m². Mean (SD) for gestational age at the time of puncture was 36.4 (1.31) weeks and at birth, 37.1 (1.24) weeks. Patients' average number of pregnancies was 3, with a minimum of 1 and maximum of 9 pregnancies. Birth weight of the

infants mean (SD) was 3325 (616) grams, with a minimum weight of 1710 g and 4990 g maximum. Time between puncture and interruption of pregnancy median (percentile 25-75) was 3.5 days (2.1 - 6.3) (Table 1).

Here we present information regarding pregnancy pathologies in which puncture was indicated for evaluation of fetal lung maturity: 57 patients (54.3%) had gestational *diabetes mellitus* (GDM); 23 (21.9%) had *diabetes mellitus* prior to pregnancy, among which 4 (3.8%) type I and 19 (18.1%) type II; 5 patients (4.8%) had pre-eclampsia and 1 (1.0%) had chronic hypertension; 3 (2.9 %) had restricted intrauterine fetal growth; 8 (7.6%) had gestational cholestasis and 8 (7.6%) had other comorbidities (Table 2).

The Apgar score at 1 minute of life had median (percentile 25-75) 8 (8 - 9), minimum 1 and maximum 10. It was lower than 7 in 24 (22.9%) and equal or higher than 7 in 81 NB (77.1%) at 1 minute of life. In addition to this, after 5 minutes, median (percentile 25-75) was 9 (9-10) with minimum 3 and maximum 10. It was lower than 7 in 5 (4.8%) and equal or higher than 7 in 100 NB (95.2%) at 5 minutes.

Regarding neonatal outcomes, we observed that 31 NB (29.5%) presented some sort of complication including jaundice, transient tachypnea, hypoglycemia, small size for gestational age or other respiratory disorders. Four (3.8%) NB required surfactant, 20 (19%) made use of oxygen. From these 20,

who used oxygen, 9 (8.5%) used inhaled oxygen and 11 (10.5%) were intubated. Twenty-seven (25.7%) NB required NICU admission. The NICU admitted NB presented an average number of hospitalization days of 9, median was 5 - 16, with minimum 1 and maximum 42 days (Table 3).

Correlation of the variables studied here and analysis of maturity through AF revealed that the mean GA (SD) at the time of puncture among matured NB was 36.5 (1.24) weeks and among immature NB was 36, 1 (1.54) weeks, with no statistically significant difference ($P=0.157$) (Table 4).

When gestational age was categorized, we observed that patients younger than 34 weeks: 4 (4.9%) were mature and 3 (13.6%) immature. In patients between 34 and 36.9 weeks: 37 (45.7%) were mature and 12 (54.5%) immature. With more than 37 weeks: 40 (49.4%) were mature and 7 (31.8%) were immature (Table 4).

Mature at birth mean GA (SD) was 37.1 (1.24) weeks, and immature was 37.3 (1.25) weeks, with no statistically significant difference ($P=0.470$). Mature NB average weight (SD) was 3343 (610) grams and immature NB average was 3278 (658) grams, with no statistical significance ($P=0.665$). The median (percentile 25-75) between puncture and birth of mature NB was 2.8 (2.1 - 4.6) days, and 5.6 (3.3 - 10.3) days for immature NB. In this case a statistically significant difference ($P=0.001$) was encountered (Table 4).

We found no statistically significant difference in Apgar values between mature and immature NB at 1 and 5 minutes ($P=0.557$ and $P=0.408$ respectively). In the 1st minute we found Apgar score lower than 7 in 17 (21%) mature and 7 (31.8%) immature NB. We also encountered equal or higher than 7 scores in 64 (79%) mature and 15 (68.2%) immature NB. At the 5th minute Apgar score was 7 in 4 (4.9%) mature and 1 (4.5%) immature NB. It was equal or higher than 7 in 77 (95.1%) mature and 21 (95.5%) immature NB (Table 4).

There was no statistically significant difference among complications of mature or immature infants ($P=0.949$). We observed that 25 (30.9%) mature and 6 (27.3%) immature NB presented complications. The need for surfactant or oxygen use and hospitalization in the NICU between mature and immature NB did not differ ($P=0.199$, $P=0.547$ and $P=1.000$, respectively) either. Two (2.5%) mature and 2 (2.5%) immature NB required surfactant. Fourteen (17.7%) mature and 5 (22.7%) immature NB required oxygen. Twenty-one (25.9%) mature and 6 (27.3%) immature NB required hospitalization in the neonatal ICU. Hospitalization median (percentile 25-75) of mature NB in NICU was 7 (5 - 12.5) days, for immature NB it was 14.5 (5.5 - 26.3) days, with no statistically significant difference ($P=0.239$) (table 4).

Correlation of the variables studied with the admission or not in NICU showed that the mean GA (SD) at the time of puncture of the 27 NB who were hospitalized in the NICU was 35.8 (1.60) weeks, and those of the 78 NB who

were not hospitalized was 36.7 (1.11) weeks. There was statistically significant difference ($P=0.012$). These NB were categorized by gestational age. Four (14.8%) less than 34 weeks old were admitted to the NICU and 3 (3.9%) were not. Between 34 and 36.9 weeks, 15 were hospitalized (55.6%) and 35 (45.5%) were not. Among NB with more than 37 weeks 8 (29.6%) were hospitalized and 39 (50.6%) were not. Hospitalized NB mean GA (SD) at birth was 36.6 (1.55) weeks, and among those who were not hospitalized it was 37.3 (1.06) weeks. Statistically significant difference ($P=0.039$) was encountered (Table 5).

The NICU admitted NB weight mean (SD) was 3114 (786) grams, while non-hospitalized weight mean was 3398 (531) grams, presenting no statistically significant difference ($P=0.089$). Time between puncture and birth median (percentile 25-75) for hospitalized NB was 3.5 (2.1 - 8.4) days, and for non-hospitalized was 3.5 (2.1 - 5.6) days which again does not present statistically significant difference ($P=0.402$) (Table 5).

There was no statistically significant difference in Apgar score values between admitted and non-admitted NB in the 1st and 5th minutes ($P=0.150$ and $P=0.182$ respectively). Apgar score in the 1st minute was lower than 7 in 9 (33.3%) hospitalized and 15 (19.2%) non-hospitalized NB. It was equal or higher than 7 in 18 (66.7%) hospitalized and 63 (80.8%) non-hospitalized NB. At the 5th minute the Apgar score was lower than 7 in 3 (11.1%) hospitalized and 2 (2.6%) non-hospitalized NB. It was equal or higher than 7 in 24 (88.9%) hospitalized and 76 (97.4%) non-hospitalized NB (Table 5).

There was statistically significant difference between complications of hospitalized and non-hospitalized NB ($P=<0.001$). Twenty-seven (100%) hospitalized NB presented complications and only 4 (5.1%) non-hospitalized NB presented such results. The need for surfactant and oxygen use among hospitalized and non-hospitalized NB also presented statistically significant difference ($P=0.004$ and $P<0.001$, respectively). Four (14.8%) hospitalized and none of the non-hospitalized NB required surfactant. Fourteen (51.9%) hospitalized and 5 (6.4%) non-hospitalized NB required oxygen (Table 5).

Correlation of the variables studied with surfactant use or not showed that GA mean (SD) was 34.6 (2.31) weeks for pregnant puncture with NB who used surfactant and 36.5 (1.22) weeks for NB who had no need for surfactant use. No statistically significant difference was encountered ($P=0.203$) (Table 6).

Upon GA categorization, we observed that NB from patients younger than 34 weeks: 2 (50%) used surfactant whereas 5 (5%) did not. In the case of NB from patients between 34 and 36.9 weeks, 1 (25%) used surfactant and 49 (49%) did not. With more than 37 weeks: 1 (25%) used surfactant and 46 (46%) did not (Table 6).

For patients whose NB needed surfactant, the mean GA (SD) at birth was 36.4 (2.37) weeks and for those whose NB did not need to use it, 37.2 (1.18) weeks. No statistically significant difference was encountered ($P=0.560$).

The mean weight (SD) of NB who needed surfactant was 2692 (299) grams, and for those who did not 3350 (162) grams, with a statistically significant difference ($P=0.035$). Median (percentile 25-75) between GA at birth and at puncture in NB who needed surfactant was 8.1 (2.6 - 26.6) days and for those who did not it was 3.5 (2.1 - 6.1) days. There was no statistically significant difference ($P=0.198$) (Table 6).

There was statistically significant difference in Apgar score values at 1 minute between NB who needed surfactant ($P=0.019$). First minute Apgar score was lower than 7 in 1 (25%) NB who used surfactant and in 23 (22.8%) who did not use it. Apgar score was equal or higher than 7 in 3 (75%) NB who required surfactant use and in 78 (77.2%) who did not require it. Regarding Apgar scores at 5 minutes, there was no statistically significant difference ($P=0.901$) between NB who did or did not need surfactant. Apgar score below 7 was given to no NB that needed surfactant and to 5 (5%) who did not. Apgar score equal or higher than 7 was given to 4 (100%) NB who needed surfactant and to 96 (95%) who did not (Table 6).

There was no statistically significant difference among complications in NB who did or did not require surfactant use ($P=0.07$). We observed that all NB that had used surfactant had some kind of complication 4 (100%), and only 27 (26.7%) of those who didn't use surfactant had some kind of complication. The need for oxygen use among NB who did or did not require surfactant presented statistically significant difference ($P=0.001$). Four (100%) NB who needed

surfactant also needed oxygen, and only 15 (14.9%) who did not need surfactant required oxygen (Table 6).

We could find the following correlation between the variables studied and the use of oxygen: puncture GA mean (SD) for women with NB who used oxygen (19) was 35.9 (1.71) weeks and for those with NB who did not (86) was 36.6 (1.18) weeks. No statistically significant difference ($P = 0.106$) was encountered (Table 7).

When GA was categorized we observed that NB from patients with less than 34 weeks: 3 (15.8%) used oxygen and 4 (4.7%) did not. In NB from patients with GA between 34 and 36.9 weeks: 10 (52.6%) used oxygen and 40 (47.1%) did not. With more than 37 weeks: 6 (31.6%) of them used oxygen and 41 (48.2%) did not (Table 7).

GA mean (SD) at birth of NB who used oxygen was 36.8 (1.61) weeks, and for those who did not was 37.2 (1.14) weeks. No statistically significant difference ($P=0.280$) was encountered. The mean (SD) weight of NB who used oxygen was 3241 (884) grams, and for those who did not was 3344 (544) grams, again showing no statistically significant difference ($P=0.632$) (Table 7).

There was no statistically significant difference between time at puncture and at birth in NB who used oxygen ($P=0.114$). The median (percentile 25-75)

between time at puncture and at birth for NB who used oxygen was 4.9 (3.5 - 8.4) days, and for those who did not was 3.5 (2.1 - 5.3) days (Table 7).

There was statistically significant difference in values between the Apgar score for NB who did or did not use oxygen at 1 minute ($P=0.001$), but no such difference at 5 minutes ($P=0.040$). At 1 minute Apgar score lower than 7 was encountered in 10 (52.6%) NB who used oxygen and in 14 (16.3%) who did not. It was equal or higher than 7 in 9 (47.4%) NB who used oxygen and in 72 (83.7%) who did not. At 5 minutes Apgar score was lower than 7 in 3 (15.8%) NB who used oxygen and in 2 (2.4%) who did not. It was equal or higher than 7 in 16 (84.2%) NB who used oxygen and in 84 (97.7%) who did not (Table 7).

There was statistically significant difference among complications in NB who did or did not use oxygen ($P<0.01$), 15 (78.9%) who used oxygen and 16 (18.6%) who did not presented some sort of complication (Table 7).

The diagnostic properties of these tests were analyzed according to each outcome studied. Considering the need for NB admission into the NICU, Clements Test showed $S = 58.8\%$, $Sp = 44.6\%$, $PPV = 21.7\%$ and $NPV = 80.6\%$. The phosphatidylglycerol, for the same outcome, showed $S = 14.3\%$, $Sp = 95.1\%$, $PPV = 50\%$ and $NPV = 76.5\%$. The L/S ratio showed $S = 52.4\%$, $Sp = 57.4\%$, $PPV = 35.5\%$ and $NPV = 73.0\%$ (Table 8).

Regarding the need of oxygen use by NB, Clements Test showed S = 69.2%, Sp = 46.4%, PPV = 19.6% and NPV = 88.9%. The phosphatidylglycerol, for the same outcome, showed S = 9.1%, Sp = 93.2%, PPV = 25% and NPV = 80.4%. The L/S ratio showed S = 60.0%, Sp = 58.5%, PPV = 29.0% and NPV = 83.8% (Table 8).

Tests were also analyzed in relation to NB need for surfactant use. It showed Clements S = 100%, Sp = 45.0%, PPV = 4.3%, and NPV = 100%. The phosphatidylglycerol, for the same outcome showed S = 33.3%, Sp = 94.2%, PPV = 25% and NPV = 96.1%. The L/S ratio, showed S = 100%, Sp = 57.8%, PPV = 12.9% and NPV = 100% (Table 8).

Furthermore, considering the need for NB surfactant use, we established in our study, through a ROC (Receiver Operating Characteristic), a new cut-off point for the L/S ratio, which was <1.35 for immature, with S = 66.7%, Sp = 87.5%, PPV = 20.0% and NPV = 98.2% (Table 8, Figure 1).

DISCUSSION

It is possible to observe within this study that there was no statistically significant difference between GA at puncture and complications of mature or

immature NB. Also, GA at puncture time was consistent with the numerous studies mentioned, being performed almost all of them before term, according to each indication. The vast majority of patients who were punched presented *diabetes mellitus* as indication for the procedure, reproducing in our research the same indication of many other publications and showing that *diabetes mellitus* is one of the main indications for evaluation of fetal lung maturity, either because this disease delays fetal lung maturity, or for its correlation with complications that can lead to termination of pregnancy before term. (Berkowitz et al., 1997; Langer, 2002; Piper, 2002).

We also observed statistically significant difference in the evaluation of mean gestational age at the moment of puncture of pregnant women whose NB were admitted in NICU and mean gestational age of the birth of infants admitted in the same unit, which can be clearly explained due to the fact that the lower the GA, the greater the likelihood of complications and neonatal ICU admissions, as seen in clinical studies (Sweet et al., 2010; Wetta et al., 2012). Obviously, all NB who were admitted in the NICU were also the youngest and all presented some sort of complication. However, 4 NB from the group that were not admitted in the NICU presented complications such as large for gestational age (LGA), hypoglycemia and jaundice. None of them needed intensive intervention. Furthermore, NB who required oxygen therapy and were not admitted in the NICU used inhaled oxygen in immediate postpartum period, because they had low Apgar score at 1 minute.

Regarding the use of surfactant, there was statistically significant difference upon analysis of its relation to NB weight, Apgar score at 1 minute and NB need for supplemental oxygen. Only 4 NB in our study required surfactant and all of them used oxygen, probably because they were the smallest, with lowest Apgar scores, and with more complications also consistent with literature (Golombeck et al., 2000).

Regarding neonatal outcomes, the present study clearly showed that by delaying birth time, performing maturity tests, especially shake test, we were able to achieve similar results in both groups.

Upon perinatal outcomes evaluation, we observed that NB from women with fetal maturity present in amniotic fluid tests prior to interruption, presented less frequent neonatal complications, need for supplemental oxygen, surfactant and ICU admission, demonstrating lower perinatal morbidity. Thus, with fetal lung maturity presence information, it becomes easier for the obstetrician to make decisions about the timing of the interruption of high-risk pregnancies, even away from term. On the other hand, the information on fetal lung immaturity leads us to act more conservatively, trying to prolong pregnancy for the fetus to reach maturity.

Our objective was to evaluate fetal lung maturity tests in our center, with context of different etiologies high-risk pregnancies, the same way as its use

has been described in other centers. We were able to demonstrate effectively that these tests have similar predictive values to those previously published in other studies, enabling its use to define the maintenance or termination of pregnancy, with better outcomes for NB. The L/S ratio in the study of Anceschi et al. (1996) showed 100% sensitivity, 81% specificity, 36% positive predictive value and 100% negative predictive value. Evaluation of phosphatidylglycerol in Garite et al. (1983) study showed 100% sensitivity, 80% specificity, 38% positive predictive value and 100% negative predictive value. Clements test in a Brazilian study showed 87.9% sensitivity, 74.5% specificity, 89.4% positive and 71.4% negative predictive value respectively, with an accuracy of 84% (Amorim et al., 1998).

Results differences between our study and literature described above, are due to the fact that our analyses were carried out in the context of clinical practice, where results that indicated immature fetuses led to postponing birth and new puncture in a week or awaiting term, when possible. Indeed, the evaluation of neonatal outcomes did not differ between the groups, except in time between punch and interruption of pregnancy. Our study has evaluated the performance of the tests in clinical practice and showed that, when applied, they provide better neonatal outcomes.

According to the result of our study, the best performance test to assess fetal lung maturity was phosphatidylglycerol, which presented specificity above 90% for all outcomes analyzed (requirement of admission to the NICU, oxygen

and surfactant use), confirming what is well established in global literature. As described by Gluck et al. (1973), phosphatidylglycerol, despite its relatively low contribution to the total surfactant, is widely used to assess fetal lung maturity because it is considered a late fetal lung maturity marker, and once detected; it is a strong indicator that there will be no RDS.

In fact, this study is not meant to evaluate the reduction of the risks and complications of prematurity when using fetal lung maturity tests, but rather to show that, upon its use we can reach similar perinatal outcomes in the 2 groups: mature and immature NB.

CONCLUSION

We can conclude that there was statistically significant difference in the comparison between the GA at puncture and birth, because obviously having tested positive, interruption was indicated, and when the test result was negative interruption was postponed until term or until a new examination was performed and tested positive for lung maturity. Other findings in our study were also significant, such as the need for NICU admission according to GA at puncture and birth, as well as the fact that the NB who needed ICU were those who presented the most complications, such as the surfactant and oxygen requirement, data that is consistent with literature (Battaglia et al., 1967; Sweet et al., 2010).

Most studies focused on lung maturity test (Amorim et al., 1998; And Nomura et al., 2001) include a small number of patients and therefore results are presented with wide confidence intervals. Our study has the same limitations. Another limitation is the long time required to achieve an adequate number of tests to make comparisons. During this time, variations in technique and analysis can occur.

We can conclude that the test with the best positive predictive value was phosphatidylglycerol, and its detection is a strong indicator that there will be no RDS. Moreover, the greatest advantage of phosphatidylglycerol as a fetal lung maturity marker, lays on its absence in blood or meconium, thus being the most appropriate test for the assessment of fetal lung maturity.

We have also established a new cut-off point for the L/S ratio, obtained from the ROC curve, with value for immaturity < 1.35 , showing a tendency to reduce this cut-off.

This study concluded that in relevant situations where the resolution of pregnancy is important for the improvement of maternal or fetal prognosis, amniocentesis to collect amniotic fluid has its value, since pulmonary fetal maturity finding reassures both mother and physician regarding the realization of therapeutic preterm birth. The performance of amniocentesis in pregnancies with less than 30 weeks should always be restricted. When pulmonary fetal

maturity is present in the analysis of amniotic fluid, there is a reduced need for NB supplemental oxygen and surfactant immediately after birth, and a reduced need for hospitalization in the NICU, thus endorsing the use of amniocentesis for the diagnosis of fetal lung maturity. However, studies with larger samples to validate the findings are necessary.

Table 1 – Sample characterization

Characteristics *	n=105
Maternal age (years)	31.9 ± 6.8 [14 – 50]
BMI (kg/m ²)	35.1 ± 7.2 [19.1 – 56.5]
Gestational age at amniocentesis (weeks)	36.4 ± 1.31 [32.0 – 38.5]
Gestational age at birth (weeks)	37.1 ± 1.24 [33.4 – 39.0]
Number of pregnancies	3 (2 – 4) [1 – 9]
NB weight (g)	3325 ± 616 [1710 – 4990]
Time between the puncture and birth (days)	3.5 (2.1 – 6.3) [0 – 35]

* described by mean ± SD or median (percentile 25 – 75) plus the minimum and maximum

Table 2 - Pathologies

Pathology	n=105
	n (%)
<i>Diabete</i>	80 (76.2)
Gestacional	57 (54.3)
Type I	4 (3.8)
Type II	19 (18.1)
Hypertensive diseases	6 (5.8)
Pre-eclampsia	5 (4.8)
Chronic hypertension	1 (1.0)
Cholestasis	8 (7.6)
FGR	3 (2.9)
Other	8 (7.6)

Table 3 – NB Outcomes

Variables	n=105
	n (%)
Complications	
Yes	31 (29.5)
No	74 (70.5)
Surfactant use	
Yes	4 (3.8)
No	101 (96.2)
Oxygen use	
Yes*	20 (19.0)
No	85 (81.0)
NICU admission	
Yes	27 (25.7)
No	78 (74.3)
Time in NICU (days)**	9 (5 – 16) [1 – 42]

* 9 inhaled (8.5%) e 11 entubated (10.5%); ** median (percentile 25 – 75) [minimum and maximum]

Table 4 – Association of the studied variables with analysis of lung maturity

Characteristics *	Mature (n=81)	Immature (n=22)	P
Gestational age at amniocentesis (weeks)	36.5 ± 1.24	36.1 ± 1.54	0.157
< 34	4 (4.9)	3 (13.6)	
34 – 36.9	37 (45.7)	12 (54.5)	
≥ 37	40 (49.4)	7 (31.8)	
Gestational age at birth (weeks)	37.1 ± 1.24	37.3 ± 1.25	0.470
NB weight (g)	3343 ± 610	3278 ± 658	0.665
Time between puncture and birth (days)	2.8 (2.1 – 4.6)	5.6 (3.3 – 10.3)	0.001
Apgar score at 1 st min			0.557
< 7	17 (21)	7 (31.8)	
≥ 7	64 (79.0)	15 (68.2)	
Apgar score at 5 th min			0.408
< 7	4 (4.9)	1 (4.5)	
≥ 7	77 (95.1)	21 (95.5)	
Neonatal complications	25 (30.9)	6 (27.3)	0.949
Surfactant use	2 (2.5)	2 (9.1)	0.199
Oxygen use	14 (17.3)	5 (22.7)	0.547
NICU admission	21 (25.9)	6 (27.3)	1.000
Time in NICU (days)**	7 (5 – 12.5)	14.5 (5.5 – 26.3)	0.239

* described by mean ± SD or median (percentile 25 – 75) or n (%)

Student t-test, Mann-Whitney, chi-square test, Fisher's exact test

Table 5 –Association of studied variables with analysis of NICU admission

Characteristics *	with/NICU (n=27)	without/NICU (n=78)	P
Gestational age at amniocentesis (weeks)	35.8 ± 1.60	36.7 ± 1.11	0.012
< 34	4 (14.8)	3 (3.9)	
34 – 36,9	15 (55.6)	35 (45.5)	
≥ 37	8 (29.6)	39 (50.6)	
Gestational age at birth (weeks)	36.6 ± 1.55	37.3 ± 1.06	0.039
NB weight (g)	3114 ± 786	3398 ± 531	0.089
Time between puncture and birth (days)	3.5 (2.1 – 8.4)	3.5 (2.1 – 5.6)	0.402
Apgar score at 1 st min			0.150
< 7	9 (33.3)	15 (19.2)	
≥ 7	18 (66.7)	63 (80.8)	
Apgar score at 5 th min			0.182
<7	3 (11.1)	2 (2.6)	
≥ 7	24 (88.9)	76 (97.4)	
Neonatal complications	27 (100)	4 (5.1)	<0.001
Surfactant use	4 (14.8)	0 (0.0)	0.004
Oxygen use	14 (51.9)	5 (6.4)	<0.001

* described by mean ± SD or median (percentile 25 – 75) or n (%)

Student t-test, Mann-Whitney, chi-square test, Fisher's exact test

Table 6 – Association of studied variables with analysis of surfactant use

Characteristics *	with/surfactant (n=4)	without/surfactant (n=100)	P
Gestational age at amniocentesis (weeks)	34.6 ± 2.31	36.5 ± 1.22	0.203
< 34	2 (50.0)	5 (5.0)	
34 – 36.9	1 (25.0)	49 (49.0)	
≥ 37	1 (25.0)	46 (46.0)	
Gestational age at birth (weeks)	36.4 ± 2.37	37.2 ± 1.18	0.560
NB weight (g)	2692 ± 299	3350 ± 612	0.035
Time between puncture and birth (days)	8.1 (2.6 – 26.6)	3.5 (2.1 – 6.1)	0.198
Apgar score at 1 st min			0.019
< 7	1 (25.0)	23(22.8)	
≥ 7	3 (75.0)	78 (77.2)	
Apgar score at 5 th min			0.901
< 5	0 (0.0)	5 (5.0)	
≥ 7	4 (100)	96 (95.0)	
Neonatal complications	4 (100)	27 (26.7)	0.007
Oxygen use	4 (100)	15 (14.9)	0.001

* described by mean ± SD or median (percentile 25 – 75) or n (%)

Student t-test, Mann-Whitney, chi-square test, Fisher's exact test

Table 7 – Association of studied variables with analysis of oxygen use

Characteristics *	with/oxygen (n=19)	without/oxygen (n=86)	P
Gestational age at amniocentesis (weeks)	35.9 ± 1.71	36.6 ± 1.18	0.106
< 34	3 (15.8)	4 (4.7)	
34 – 36,9	10 (52.6)	40 (47.1)	
≥ 37	6 (31.6)	41 (48.2)	
Gestational age at birth (weeks)	36.8 ± 1.61	37.2 ± 1.14	0.280
NB weight (g)	3241 ± 884	3344 ± 544	0.632
Time between puncture and birth (days)	4.9 (3.5 – 8.4)	3.5 (2.1 – 5.3)	0.114
Apgar score at 1 st min			0.001
< 7	10 (52.6)	14 (16.3)	
≥ 7	9 (47.4)	72 (83.7)	
Apgar score at 5 th min			0.040
< 7	3 (15.8)	2 (2.4)	
≥ 7	16 (84.2)	84 (97.7)	
Neonatal complications	15 (78.9)	16 (18.6)	<0.001

* * described by mean ± SD or median (percentile 25 – 75) or n (%)

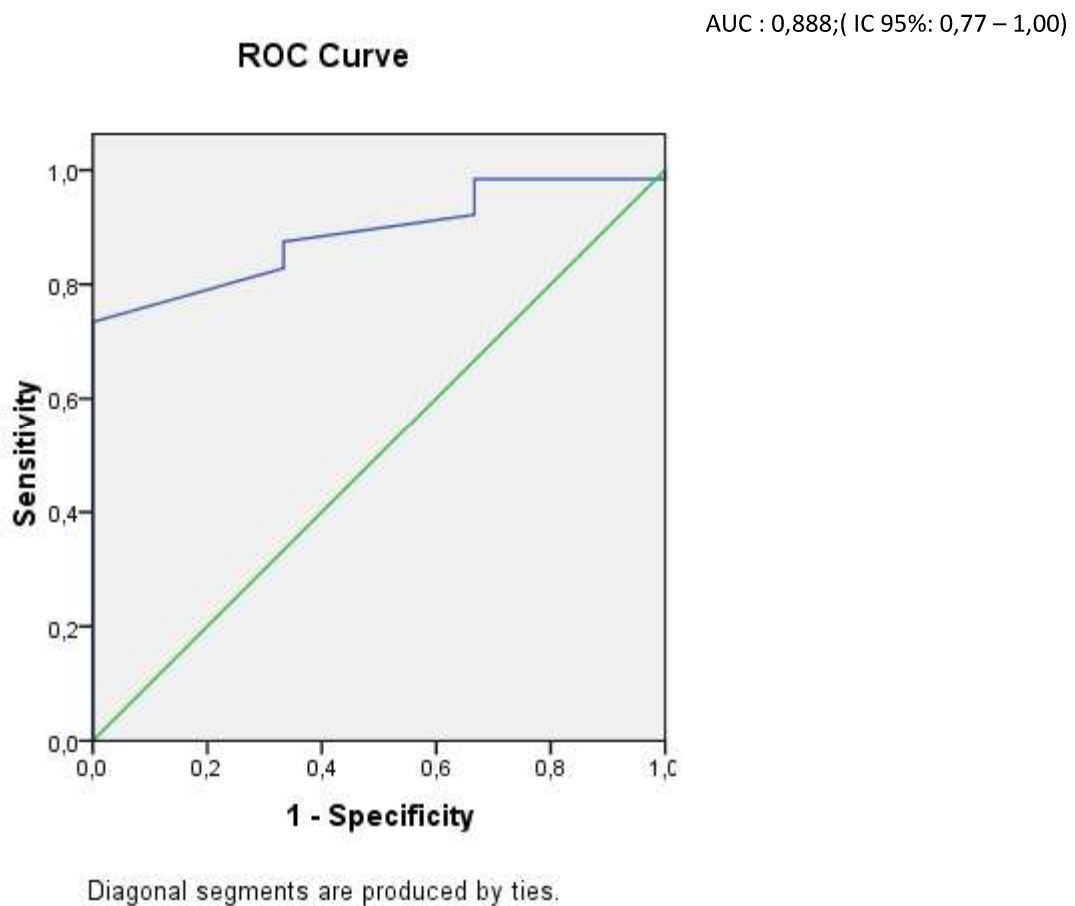
Student t-test, Mann-Whitney, chi-square test, Fisher's exact test

Table 8 –Diagnostic performance of components of fetal lung maturity tests

Outcomes	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
NICU admission				
Clements	58.8%	44.6%	21.7%	80.6%
Phosphatidylglycerol	14.3%	95.1%	50.0%	76.5%
L/S ratio	52.4%	57.4%	35.5%	73.0%
Oxygen use				
Clements	69.2%	46.4%	19.6%	88.9%
Phosphatidylglycerol	9.1%	93.2%	25.0%	80.4%
L/S ratio	60.0%	58.5%	29.0%	83.8%
Surfactant use				
Clements	100%	45.0%	4.3%	100%
Phosphatidylglycerol	33.3%	94.2%	25.0%	96.1%
L/S ratio	100%	57.8%	12.9%	100%
L/S ratio (<1,35*)	66.7%	87.5%	20.0%	98.2%

* cut-off point obtained by ROC curve

Figure 1 – Need for use of surfactant



New cut-off point for the L/S ratio, through a ROC (Receiver Operating Characteristic) Curve

Cut-off point <1.35 for immature

BIBLIOGRAPHY

- American College of Obstetricians and Gynecologists. Antepartum fetal surveillance. ACOG Practice Bulletin No. 9. October 1999.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Assessment of fetal lung maturity. ACOG educational bulletin. Int J Gyn Obstet. 1996; 56:191–8.
- American *Diabete* Association. Diagnosis and classification of *diabete* mellitus. *Diabete* Care. 2014; 37 Suppl 1: s81.
- Anceschi MM, Piazzze GJJ, Unfer V, Di Benedetto MR, Cosmi EV. A comparison of shake test, optica density, L/S ratio (planimetric and stechiometric) and PG for the assessment of fetal lung maturity. J Perinat Med. 1996: 24: 355-62.
- Amorim MMR, Faundes A, Santos LC, Azevedo E. Acurácia do teste de Clements para avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestantes com doença hipertensiva específica da gestação. Rev Bras Ginecol Obstet. [online]. 1998, vol.20, n.5. 253-260.
- Arrese M, Macias RI, Briz O. Molecular pathogenesis of intahepatic cholestasis of pregnancy. Expert Rev Mol Med. 2008; 10:e9.

- Ashwood ER, Oldroyd RG, Palmer SE. Measuring the number of lamellar body particles in amniotic fluid. *Obstet Gynecol.* 1990 Feb;75(2):289-92.
- Bacq Y. Intrahepatic Cholestasis of pregnancy. *Clin Liver Dis.* 1999, 3:1.
- Bahado-Singh RO, Kovanci E, Jeffres A. The Doppler cerebroplacental ratio and perinatal outcome in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 180:750.
- Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr.* 1967; 71:159.
- Becq Y, Sapey T, Brechot MC. Intrahepatic cholestasis of pregnancy a French prospective study. *Hepatology.* 1997; 26:358.
- Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive pulse counting: relationship to measures of fetal lung maturity. *Clin Chem.* 1989 Apr; 35(4):612-6.
- Gainer J, Alexander J, McIntire D. Fetal growth velocity in women who develop superimposed preeclampsia. Presented at the 25th Annual Meeting of the Society for Maternal-fetal Medicine, Reno, Nevada, February 7-12,2005.
- Garite TJ, Yabusaki KK, Moberg LJ, Symons JL, White T, Itano M, et al. A new rapid slid agglutination test for amniotic fluid phosphatidylglycerol: laboratory and clinical correlation. *Am J Obstet Gynecol.* 1983; 147: 681-6.

- Gluck L, Kulovich MV, Borer RC, Jr., Keidel WN. The interpretation and significance of the lecithin-sphingomyelin ratio in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 1974 Sep; 120(1):142-55.
- Gluck L, Kulovich MV. Lecithin-sphingomyelin ratios in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1973 Feb 15; 115(4):539-46.
- Golombek. Effects of surfactant treatment on gas-exchange and clinical course in near-term newborns with RDS. *J Perinat Med.* 200; 28:436-42.
- Gonzales MC, Reyes H, Arrese M. Intrahepatic cholestasis of pregnancy in twin pregnancies. *J Hepatol.* 1989; 9:84.
- Grenache, Danid G, Gronowski Ann M. Fetal Lung Maturity. *Clinical Biochemistry* 39 (2006) 1-10.
- Guoyang Luo, MD, PhD, Errol R. Norwitz, MD. Revisiting Aminiocentesis For Fetal Lung Maturity After 36 Weeks' Gestation. *Rev Obstet Gynecol.* 2008; 1(2):61-68.
- International Association of *Diabete* and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. International Association of *Diabete* and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabete Care.* 2010; 33(3):676-82.
- Kenyon AP, Piercy CN, Girling J. Obstetric Cholestasis, outcome with active management a series of 70 cases. *BJOG.* 2002; 109:262.

- Kjos. Prospective delivery of reality dated term infants of diabetic mothers without determination of fetal lung maturity: comparison to historical control. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002; 12: 433-7.
- Leveno, Kenneth J. *Manual de Obstetrícia de Williams – 22. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2010.*
- Meng LJ, Reye H, Palma J. Effects os ursodeoxycholic acido n conjugated bile acids and progesterone metabolites in serum and urine of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J hepatol.* 1997; 26:358.
- Moore TR. A comparison of amniotic fluid fetal pulmonary phospholipids in normal and diabetic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 641-50.
- Mujezinovic F, Alfirevic Z. Technique modifications for reducing the risk from amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 8:CD008678.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Report of National High Blood Pressure Education Program Working Group on high Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183 (1):S1-S22.
- Nomura RMY, Miyadahira S, Francisco RVP, Okatani D, Zugaib M. Avaliação da maturidade fetal em gestações de alto risco: análise dos resultados de acordo com a idade gestacional. *Rev Ass Med Brasil* 2001; 47(4): 346-51.

- Roiz-Hernandez J, Navarro-Sollis E, Carreon-Valdez E. Lamellar bodies as a diagnostic test of fetal lung maturity. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002 Jun; 77(3):217-21.
- Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocenteses: how safe? *Am J Obstet Gynecol.* 2004. 191:607.
- Stark CM, Smith RS, Lagrandeur RM. Need for urgent delivery after third-trimester amniocentesis. *Obstet Gynecol.* 2000; 95:48.
- Sweet DG. European Consensus Guideline on the Management of Neonatal Respiratory Distress Syndrome in Preterm Infants. *Neonatology.* 2010; 97:402-417.
- Ventolini G, Buchenroth B, McCluskey K, Belcastro MR, Hood DL. Fetal Lung Maturity Testing and Neonatal Respiratory Complications in Women with Type 1 *Diabete* mellitus Electively Delivered before 39 Weeks gestation. *J Women's Health Care.* 2012; 1:111.
- Wetta L, Tita ATN. Early term births: Considerations in management. *Obst Gynecol Clin N Am.* 2012; 39: 89-97.
- Wilcox MA, Smith SJ, Johnson IR. The effect of social deprivation on birthweight, excluding physiological and pathological effects. *Br J Obstet Gynaecol.* 102; 918,1995.
- Williamson C, Hems LM, Goulis DG. Clinical outcome in a series of cases of obstetric cholestasis identified via a patient support group. *BJOG.* 2004; 111:676.

- Zanardo. Neonatal respiratory morbidity risk and mode of delivery at term: influence of timing of elective cesarean delivery. *Acta Pediatr.* 2004; 93: 643-7.
- Zhao Q. Predicting respiratory syndrome using gestational age and lamellar body cont. *Clin Biochem.* 2013.
- Zugaib, Zugaib *Obstetrícia: Avaliação da maturidade pulmonary.* 2ª edição 2008 Ed Manole.

ANEXOS

ANEXO 1

FICHA ROTEIRO DE DADOS

FICHA DE COLETA DE DADOS

Número na pesquisa:

Dados maternos:

Idades: ____ Peso: ____ Altura: ____ Paridades: ____G____P____C____A____F

Dados da gestação atual:

IG na punção: _____ IG na interrupção: _____

Patologias associadas:

Dados da punção:

Relação lecitina/esfingomielina: _____

Clements: ____Positivo ____Intermediário ____Negativo

Fosfatidilglicerol: ____Presente ____Ausente

Aparência do líquido amniótico: _____

Dados do Recém-nascido:

Apgar 1º min: ____ Apgar: 5º Min: ____

Peso nascimento: _____g

Número de dias na UTI neonatal: _____

Uso de surfactantes: ____Sim ____Não

Uso de oxigênio: ____Sim ____Não

Intercorrências neonatais:

Outros: _____

ANEXO 2

Termo de Autorização para Utilização e Manuseio de Dados

Pedimos autorização para manusear os prontuários desta unidade, Maternidade Mario Totta, para a realização do projeto Avaliação da Maturidade Pulmonar Fetal e Desfecho Neonatal, orientado pela Dra. Mirela Foresti Jiménez e desenvolvido pela mestrandia Tayara Pigatto.

O objetivo da pesquisa é avaliar os resultados da pesquisa de maturidade fetal, em gestações de alto risco, através da análise do líquido amniótico, obtido por amniocentese, comparando os resultados com a idade gestacional no momento da punção e os desfechos neonatais.

Os dados serão coletados através da consulta dos prontuários das pacientes, e somente serão iniciadas as coletas mediante a autorização do responsável do setor, sendo mantido sigilo de todas as informações obtidas.

Os dados coletados serão utilizados para desenvolver a tese de mestrado já citada, e posteriormente serão publicados em revistas científicas da área. Os dados ficarão guardados por 5 anos, sob responsabilidade dos pesquisadores e após esse período serão destruídos.

Porto Alegre , 22 de junho de 2012,

ANEXO 3**TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS DE PRONTUÁRIOS MÉDICOS**

Título do Projeto: Avaliação da maturidade pulmonar fetal e desfecho neonatal

Os pesquisadores abaixo comprometem-se a garantir e preservar as informações dos prontuários e base de dados dos Serviços e do Arquivo Médico da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, garantindo a confidencialidade dos pacientes. Concordam, igualmente que as informações coletadas serão utilizadas única e exclusivamente para execução do projeto acima descrito. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima.

Porto Alegre, 22 de junho de 2012.

NOME DOS PESQUISADORES	ASSINATURA
1- Mirela Foresti Jiménez	
2- Tayara Pigatto	
3- Patrícia El Beitune	
4- Ellen Machado Arlindo	

ANEXO 4

Parecer Consubstanciado de Projeto de Pesquisa

Pavane Realto
 Título do Projeto: Avaliação da maturidade pulmonar fetal e desfecho neonatal.

Pesquisador Responsável Nirela Jimenez

Parecer 1764/12

Data da Versão 23/08/2012

Cadastro 976/12

Data do Parecer 11/07/2012

Grupo e Área Temática: III - Projeto fora das áreas temáticas especiais

Objetivos do Projeto

Avaliar os resultados da pesquisa de maturidade fetal, em gestações de alto risco, através da análise do líquido amniótico, obtido por amniocentese, comparando os resultados com a idade gestacional no momento da punção e os desfechos neonatais.

Sumário do Projeto

Trata-se de um estudo transversal onde serão avaliadas 60 amniocenteses, comparando com os resultados com a idade gestacional no momento da punção e os desfechos neonatais.

Bens Metodológicos e Éticos	Situação
Título	Adequado
Autores	Adequados
Local de Origem na Instituição	Comentário
Projeto elaborado por patrocinador	Não
Aprovação no país de origem	Não necessita
Local de Realização	Outro (citar no comentário)
Outras instituições envolvidas	Não
Condições para realização	Adequadas

Comentários sobre os itens de Identificação

Os exames prontos serão do complexo Hospitalar Santa Casa, cuja autorização do local está assinada.

Introdução	Adequada
------------	----------

Comentários sobre a Introdução

Adequada

Objetivos	Adequados
-----------	-----------

Comentários sobre os Objetivos

Adequados

Pacientes e Métodos	
Delimitação	Adequado
Tamanho da amostra	Total 13 Local 13
Cálculo do tamanho da amostra	Não informado
Participantes pertencentes a grupos especiais	Não
Seleção equitativa dos indivíduos participantes	Não se aplica
Crterios de inclusão e exclusão	Ausentes
Relação risco-benefício	Não se aplica
Uso de placebo	Não utiliza
Período de suspensão de uso de drogas (wash out)	Não utiliza
Monitoramento da segurança e dados	Não se aplica
Avaliação dos dados	Adequada - quantitativa
Privacidade e confidencialidade	Adequada
Termo de Consentimento	Não necessário
Adequação às Normas e Diretrizes	Sim

Comentários sobre os itens de Pacientes e Métodos

Cronograma	Adequado
Data de início prevista	maio 12
Data de término prevista	dezembro 12
Orçamento	Adequado
Fonte de financiamento externa	Não

Comentários sobre o Cronograma e o Orçamento

Referências Bibliográficas

Adequadas

Comentários sobre as Referências Bibliográficas

Adequadas

Recomendação

Aprovar

Comentários Gerais sobre o Projeto

Todas as alterações solicitadas na primeira análise do presente projeto foram realizadas a contento pelos autores.

ANEXO 5

	Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre Rua Prof. Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585 CEP 90020-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68 Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tche.br	
PARECER CONSUBSTANCIADO		
Protocolo nº 3428/10		Parecer Complementar nº 517/010
Título: “Avaliação da maturidade pulmonar fetal e desfecho neonatal”.		
Pesquisador Responsável:		Mirela F. Jiménez
Data de entrada: 05/10/2010		
Instituição onde se realizará – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.		
II – Objetivos – Avaliar os resultados da pesquisa de maturidade fetal, em gestações de alto risco, através da análise do líquido amniótico, obtido por amniocentese, comparando os resultados com a idade gestacional no momento da punção e os desfechos neonatais.		
III - Sumário do Projeto		
Descrição e caracterização da amostra: Trata-se de estudo transversal. Serão avaliados os resultados de aproximadamente 60 amniocenteses realizadas no Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, no período de janeiro de 1999 a setembro de 2010; bem como, os resultados neonatais, que serão coletados através de consulta nos prontuários de internação das pacientes e de seus recém-natos.		
Critérios de Inclusão: Serão incluídas no trabalho, gestantes de alto risco provenientes do ambulatório de pré-natal ou da enfermaria da Unidade de Internação Obstétrica do Hospital Santa Clara, da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre encaminhadas ao serviço de Medicina Fetal para realizar avaliação da maturidade pulmonar fetal no período entre janeiro de 1999 e setembro de 2010.		
Critérios de Exclusão: Para este trabalho, serão excluídos os dados de pacientes que não realizaram o parto nesta instituição e daquelas que o parto ocorreu num período maior do que dez dias da realização da amniocentese.		
Adequação das condições - Hospital escola com infra-estrutura adequada para a realização do estudo descrito.		
IV - Comentários:		
- Justificativa do uso de placebo – não se aplica.		
- Análise de riscos e benefícios – não apresenta.		
- Adequação do termo de consentimento e forma de obtê-lo – não se aplica.		
- Informação adequada quanto ao financiamento – adequado.		
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS) Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509. FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.		



Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585
 CEP 90020-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68
 Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tche.br



- Outros centros no caso de estudos multicêntricos – não se aplica.

V – Parecer do relator — “Após reavaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer”.

VI - Data da Reunião: 09/11/2010.

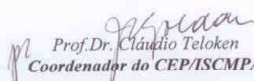
VII - Data da Reavaliação: 03/02/2011.

“Projeto e Termo de Consentimento, Aprovados”.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 – Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Porto Alegre, 03 de Fevereiro de 2011.


 Prof. Dr. Cláudio Teloken
 Coordenador do CEP/ISCMPA

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA

Reconhecido:

Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br
 Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
 IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
 Office for Human Research Protections (ORPH) sob número – IRB00002509.
 FWA – Federalwide Assurance sob número – FWA00002949.

Parecer 517/10