

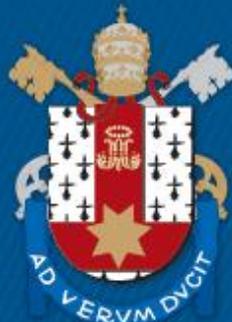
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA / PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA
DOUTORADO EM MEDICINA / PEDIATRIA

MANOEL ANTONIO DA SILVA RIBEIRO

**TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS NO ASPIRADO BUCAL DE RECÉM-NASCIDOS
PREMATUROS PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DO DESCONFORTO
RESPIRATÓRIO**

Porto Alegre
2016

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

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

**TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS NO ASPIRADO BUCAL DE RECÉM-
NASCIDOS PREMATUROS PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DO
DESCONFORTO RESPIRATÓRIO**

Tese de Doutorado apresentada ao
Curso de Pós-graduação em Medicina /
Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul,
como parte dos requisitos necessários à
obtenção do título de Doutor em
Medicina/Pediatria.

MANOEL ANTONIO DA SILVA RIBEIRO

manoel.ribeiro@pucrs.br

Orientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori

Co-orientador: Prof. Emérito Dr. Renato Machado Fiori

Porto Alegre, 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R484t Ribeiro, Manoel Antonio da Silva

Teste das microbolhas estáveis no aspirado bucal de recém-nascidos prematuros para o diagnóstico de síndrome do desconforto respiratório / Manoel Antonio da Silva Ribeiro. – Porto Alegre, 2016.
87 f. : il. tb.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança, Faculdade de Medicina, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori.

Co-orientador: Prof. Emérito Dr. Renato Machado Fiori.

1. Medicina. 2. Pediatria. 3. Síndrome do Desconforto Respiratório do Recém-Nascido/diagnóstico. 4. Doença da Membrana Hialina.
5. Surfactantes Pulmonares. 5. Prematuro. I. Fiori, Humberto Holmer.
II. Fiori, Renato Machado III. Título.

CDD 618.922

CDU 616.24-053.31

NLM WS 410

**Ficha Catalográfica elaborada por Vanessa Pinent
CRB 10/1297**

MANOEL ANTONIO DA SILVA RIBEIRO

**TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS NO ASPIRADO BUCAL DE RECÉM-
NASCIDOS PREMATUROS PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DO
DESCONFORTO RESPIRATÓRIO**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina /Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina/Pediatria

Aprovada em 08 de Julho de 2016.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Pedro Celiny Ramos Garcia - PUCRS

Prof. Dr. Jorge Hecker Luz - PUCRS

Prof Dr. José Dirceu Ribeiro - UNICAMP

Porto Alegre

2016

*Aos meus filhos, André e Raquel,
e minha esposa Elizane, por tudo
que representam em minha vida.*

Agradecimentos

Ao **Dr. Humberto Holmer Fiori**, por ter aceitado ser meu orientador, pelo profissionalismo, apoio e auxílio durante todo o doutorado.

Ao **Dr. Renato Machado Fiori**, Professor Emérito da PUCRS, meu grande exemplo de professor e médico, agradeço por ter dividido comigo todo o seu conhecimento no mundo do ensino e da pesquisa, pela disponibilidade, dedicação e convivência.

Às ex-Residentes do Serviço de Neonatologia do Hospital São Lucas da PUCRS: **Ana Beatriz Wasciniewski, Ana Carolina Farias, Ana Paula Vaz, Fernanda Schimit, Júlia Victora, Larissa Martins, Laura Alonso Rosa, Letícia Maines, Lívia Lopes Moreira, Milena Abegg, Roberta Bertão e Vanessa Theobald**, e aos residentes atuais **Gulherme Wolquind, Mariana Endres, Natália Correa e Tanize Librelato ferraz**, pelo apoio durante a coleta das amostras, esforço, dedicação e empenho, que foram fundamentais para a realização deste estudo.

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

Às secretárias **Ana Cardoso** e **Carla Rothmann**, pela imensa gentileza, cordialidade e apoio durante todo o doutorado.

Aos **colegas do curso de pós-graduação**, pela amizade, parceria e troca de experiências durante este período.

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

Aos meus **pais, Manoel (in memoriam) e Alba**, pelo amor incondicional e por me ensinarem que o respeito às pessoas é o caminho para o sucesso.

“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.”

SIR ISAAC NEWTON

RESUMO

INTRODUÇÃO: O teste das microbolhas estáveis no aspirado gástrico tem sido utilizado para o diagnóstico de síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido. Entretanto, a sua utilização no fluido bucal em recém-nascidos pré-termo ainda não foi avaliada.

OBJETIVO: Avaliar o desempenho do teste das microbolhas estáveis no aspirado bucal de neonatos pré-termo para a predição da síndrome do desconforto respiratório.

MÉTODO: Foram incluídos no estudo, recém-nascidos com menos de 34 semanas de idade gestacional. A secreção bucal foi obtida imediatamente após o nascimento e a secreção gástrica até 30 minutos de vida. As amostras foram congeladas e testadas em até 72 horas.

RESULTADOS: A amostra foi constituída de secreção pareada de 70 recém-nascidos. A mediana (amplitude interquartil) da contagem das microbolhas estáveis no fluido bucal dos recém-nascidos com síndrome do desconforto respiratório foi significativamente menor do que os que não desenvolveram ou dos tiveram sintomas respiratórios por causas indeterminadas: 12 (8-22) versus 100 (48 - 230) versus 70 (44 - 208) ($p < 0,01$), respectivamente. A correlação entre o teste das microbolhas nos aspirados gástrico e bucal foi 0,88 (IC95%: 0,72 – 0,93; $p < 0,01$). O melhor ponto de corte para predizer a síndrome do desconforto respiratório foi 15 microbolhas/ mm^2 , apresentando sensibilidade de 95,4%, especificidade de 66,7% e concordância com o aspirado gástrico de 0,76.

CONCLUSÃO: O estudo sugere que o teste das microbolhas estáveis no aspirado bucal ao nascimento é uma alternativa confiável ao fluido gástrico na predição da síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido.

Palavras-chave: Doença da membrana hialina; surfactante pulmonar; prematuridade; testes diagnósticos.

ABSTRACT

BACKGROUND: The stable microbubbles test on the gastric aspirate has been used for the diagnosis of respiratory distress syndrome of the newborn. However, its use in the preterm newborn oral aspirate was not determined.

OBJECTIVE: To evaluate the performance of the stable microbubbles test done on oral aspirate from preterm newborns to predict of respiratory distress syndrome.

METHOD: In the study were included infants with gestational age < 34 weeks. Oral secretion sample was obtained immediately after birth and gastric secretion was collected within 30 minutes of life. The samples were frozen and tested within 72 hours.

RESULTS: The sample was composed of paired secretion of 70 newborns. The median (interquartile range) of the stable microbubbles count in the oral samples of infants with respiratory distress syndrome was significantly lower than those who did not develop or had respiratory symptoms from other causes: 12 (8 - 22) versus 100 (48 - 230) versus 70 (44 - 208) ($p < 0.01$). The correlation between microbubble count in gastric and bucal aspirates was 0.88 (95%CI: 0,72 – 0,93; $p < 0.01$). Taking a cut-off point of 15 microbubbles/mm², the sensitivity of test was 95.4%, the specificity 66.7%, and the agreement of the oral fluid with the gastric fluid was 0.76.

CONCLUSION: The study suggests that the stable microbubbles test in gastric aspirate made at birth is a reliable alternative to the gastric fluid in the prediction of respiratory distress syndrome of the newborn.

Key words: Hyaline membrane disease; pulmonary surfactant; preterm newborn; diagnostic test.

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1- Composição e dosagem dos surfactantes naturais e sintéticos.	29
Tabela 2 - Estudos sobre o TME para a avaliação da maturidade pulmonar e predição de desenvolvimento de SDR	42
Tabela 3 - Estudos sobre o TME para a avaliação da maturidade pulmonar em neonatos com taquipneia transitória.	44

Capítulo III

Tabela 1- Dados demográficos de toda amostra e comparativos entre os grupos	63
Tabela 2- Contagem das microbolhas estáveis por mm ² entre os grupos e os tipos de fluidos	64
Tabela 3 – Valores de sensibilidade e especificidade para vários pontos de corte para o aspirado bucal para o diagnóstico de SDR.	68

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

Figura 1- Contagem das microbolhas em uma câmara de Neubauer 36

Capítulo III

Figura 1: Gráfico da correlação linear de Pearson após a transformação logarítmica do teste das microbolhas estáveis do aspirado bucal e teste das microbolhas estáveis do aspirado gástrico 61

Figura 2. Box-plot comparando as contagens de microbolhas do fluido bucal e o do fluido gástrico por cada grupo 65

Figura 3 - Curva ROC para o teste das microbolhas estáveis do aspirado bucal do aspirado gástrico 67

LISTA DE ABREVIATURAS ESÍMBOLOS

°C:	graus Celsius.
cm:	centímetros.
CCL:	Contagem dos corpos lamelares.
CPAP:	<i>Continuous Positive Airway Pressure</i> , ou seja, pressão positiva contínua aplicada no recém-nascido.
DPFC:	fosfatidilcolina dissaturada.
DPFC/S:	fosfatidilcolina dissaturada/esfingomielina
HSL-PUCRS:	Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
FiO₂:	fração inspirada de oxigênio.
mbe/mm²:	microbolhas por milímetro quadrado.
h:	horas.
IC 95%:	intervalo de confiança de 95%.
INSURE	intubar, aplicar surfactante e extubar (estratégia de aplicação de surfactante).
mg/ml	miligrama por ml.
min:	minutos.
mL/kg	mililitros por quilograma.
mm²:	milímetro quadrado.
p:	probabilidade de significância.
PaO₂:	pressão de oxigênio arterial.
PUCRS:	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
Relação L/E:	relação entre lecitina e esfingomielina.
SDR:	síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido.
SP-A:	proteína surfactante A.
SP-B:	proteína surfactante B.
SP-C:	proteína surfactante C.
TME:	teste das microbolhas estáveis.
TME-bucal:	teste das microbolhas estáveis do aspirado bucal.
TME-gástrico:	teste das microbolhas estáveis do aspirado gástrico.
TME-LA:	teste das microbolhas estáveis do líquido amniótico.
TME-traqueal:	teste das microbolhas estáveis do aspirado traqueal.
TTRN:	taquipneia transitória do recém-nascido.
UTI:	unidade de tratamento intensivo.
VPP:	valor preditivo positivo.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	12
INTRODUÇÃO.....	13
1.2 JUSTIFICATIVA.....	16
1.3 OBJETIVOS.....	18
1.3.1 Objetivo Geral.....	18
1.3.1 Objetivos Específicos.....	18
1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
CAPÍTULO II – ARTIGO DE REVISÃO	22
SURFACTANTE PULMONAR E TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS NA SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO DO RECÉM-NASCIDO	23
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	26
INTRODUÇÃO.....	27
TERAPIA DE REPOSIÇÃO DE SURFACTANTE PULMONAR.....	28
PREPARAÇÕES DE SURFACTANTE.....	29
MOMENTO DA ADMINISTRAÇÃO.....	31
MODOS DE ADMINISTRAÇÃO	32
COMPLICAÇÕES DO USO DE SURFACTANTE	33
RECOMENDAÇÕES QUANTO AO USO DO SURFACTANTE	34
AVALIAÇÃO DA MATURIDADE PULMONAR PELO TESTE DAS MICROBOLHAS ESTÁVEIS	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
CAPÍTULO III - ARTIGO ORIGINAL	50
DIAGNÓSTICO RÁPIDO DA SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO PELO ASPIRADO BUCAL DO RECÉM-NASCIDO	51
RESUMO.....	53
ABSTRACT.....	54
INTRODUÇÃO.....	55
MÉTODOS.....	56
RESULTADOS	60
DISCUSSÃO	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
CAPÍTULO IV	75
CONCLUSÕES	76
ANEXOS	77
ANEXO A - FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS	78
ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	79
ANEXO C – PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP	84

CAPÍTULO I

Introdução

A síndrome do desconforto respiratório (SDR), anteriormente denominada doença da membrana hialina, é uma das causas principais de morbimortalidade de recém-nascidos pré-termo, estando fundamentalmente relacionada à deficiência primária de surfactante pulmonar. O tratamento desta doença inclui aplicação de pressão positiva contínua, oxigenioterapia, ventilação mecânica e surfactante exógeno (1).

A reposição do surfactante pode ser profilática (logo após o nascimento e antes do surgimento quadro clínico e radiológico da SDR) ou terapêutica (após o surgimento de manifestações clínicas da doença) (1). O tratamento com surfactante nas primeiras duas horas de vida diminui significativamente as taxas de mortalidade, de pneumotórax e a combinação morte ou displasia broncopulmonar em recém-nascidos pré-termo (2, 3). Por sua vez, o tratamento profilático tem sido considerado especialmente relevante para prematuros extremos, mas potencialmente perigoso devido aos riscos da intubação traqueal e a erros na administração (1, 4). Estudos atuais, comparando profilaxia com a utilização de CPAP precoce e terapia de resgate com surfactante, têm sugerido que a utilização de profilaxia indiscriminada pode aumentar a necessidade de ventilação mecânica e ter impacto sobre a prevalência de displasia broncopulmonar (5). Foi demonstrado que a identificação mais precisa da maturidade pulmonar no período perinatal poderia determinar qual recém-nascido necessitaria receber surfactante profilático, permitindo que esta abordagem tenha uma melhor relação custo-benefício (6). A

necessidade de abordagem individualizada na assistência, com identificação dos prematuros deficientes de surfactante, permitiria a administração precoce e mais precisa apenas para os recém-nascidos que fossem desenvolver a doença (7).

Os testes que avaliam a maturidade pulmonar caracterizam-se por quantificar a presença de surfactante ou avaliar indiretamente a função surfactante no líquido amniótico, na secreção gástrica e no aspirado traqueal. Dentre estes testes, destacamos o teste das microbolhas estáveis (TME), o qual é realizado rotineiramente no Serviço de Neonatologia do Hospital São Lucas da PUCRS (HSL-PUCRS) há aproximadamente uma década (8).

O TME, desenvolvido por Pattle et. al., é um teste qualitativo e se apoia na capacidade das secreções que contêm surfactante pulmonar de formar bolhas estáveis com menos de 15 micrômetros. É um teste simples e com boa segurança para identificar a maturidade pulmonar (9). O TME é apropriado para ser usado junto ao leito, pois fornece, rapidamente, um resultado sobre a presença de função surfactante adequada (7, 10, 11). No líquido amniótico, no aspirado traqueal e no aspirado gástrico, o TME tem apresentado sensibilidade e especificidade elevadas (7, 12-15). O desempenho diagnóstico do TME associado à simplicidade e ao seu baixo custo mostra que ele tem um importante auxílio à indicação, de uma forma mais seletiva e judiciosa, da administração profilática de surfactante exógeno para recém-nascidos prematuros (8, 12, 16).

O TME tem sido utilizado na secreção gástrica por questões práticas, como a facilidade de obtenção do fluido e pelo desempenho do teste. Entretanto, a especificidade do teste nesta secreção, em torno de 83%, ainda leva a um significativo número de resultados falsos positivos em pacientes prematuros, o que

levaria ao uso desnecessário de surfactante (12). A secreção bucal no momento do nascimento é facilmente acessível e tem o potencial de melhorar o desempenho do teste, uma vez que, por estar mais próximo à traqueia e pelo momento em que é coletado, pode representar melhor o que está ocorrendo nos pulmões do recém-nascido. Além disto, a obtenção do material para exame é mais precoce do que na secreção gástrica, evitando a necessidade de sondagem gástrica que é desconfortável e pode atrapalhar o processo de assistência inicial do prematuro. O desempenho deste teste na secreção bucal ainda não foi avaliado.

A nossa hipótese é que o TME coletado do aspirado bucal no momento do nascimento, pode ser tão acurado quanto ao TME da secreção gástrica, podendo ser útil na predição da imaturidade pulmonar do recém-nascido pré-termo e ser de grande utilidade na prática diária neonatal.

A organização dessa tese foi de acordo com as normas do Programa de Pós-graduação em Medicina / Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. O capítulo I contém a apresentação, a justificativa e os objetivos do estudo; o capítulo II contém um artigo de revisão sobre surfactante pulmonar e teste das microbolhas estáveis; o capítulo III apresenta o artigo original, onde é descrito o estudo realizado; e o capítulo IV apresenta as conclusões desse estudo.

1.2 Justificativa

Vários ensaios clínicos randomizados têm mostrado que a utilização precoce do surfactante pulmonar exógeno logo após o nascimento, e antes do surgimento da doença, apresenta melhor resultado no tratamento da SDR em prematuros (1). Entretanto, estudos têm mostrado que aproximadamente 17% dos extremamente prematuros não necessitam ser intubados e 37 a 54% dos recém-nascidos pré-termo recebem tratamento com surfactante desnecessariamente (5, 17-19). Em face disto, um teste capaz de avaliar a maturidade pulmonar do recém-nascido pré-termo, como o TME poderia ter um papel na decisão terapêutica, auxiliando na identificação dos recém-nascidos que se beneficiarão do uso do surfactante antes do surgimento da SDR.

O teste é simples, barato e rápido, podendo ser realizado no líquido amniótico, aspirado gástrico e traqueal. Alguns estudos demonstraram que esse teste apresenta um bom desempenho diagnóstico da SDR, e no aspirado bucal recentemente foi aplicado para a detecção de deficiência da função surfactante em recém-nascidos a termo com taquipneia transitória, mas para o diagnóstico de SDR em recém-nascidos pré-termo ainda não foi avaliado (7-8, 9, 12, 13, 20).

Este trabalho visa avaliar o desempenho do TME para o diagnóstico de SDR utilizando-se material colhido da boca do neonato imediatamente após o nascimento em vez do líquido amniótico e do aspirado gástrico. Este líquido é constituído de uma mistura de líquido amniótico, líquido pulmonar e, provavelmente, saliva do recém-nascido. É possível que o líquido presente na boca do recém-nascido seja um fluido tão ou mesmo mais representativo da produção de surfactante pulmonar pelo feto do que o líquido amniótico e o aspirado gástrico. Se isto for comprovado

teríamos uma forma mais fácil e universal de avaliação precoce da maturidade pulmonar do recém-nascido, uma vez que o procedimento de aspiração da boca dos recém-nascidos é frequentemente realizado pelo obstetra imediatamente após o nascimento. Isto evitaria a necessidade da realização da sondagem gástrica nos recém-nascidos pré-termo, como rotineiramente é feito em muitos serviços. Este método alternativo, que possibilita a realização da coleta de material em qualquer centro de atendimento obstétrico, estaria contribuindo para identificar precocemente os recém-nascidos pré-termo com deficiência de surfactante e, talvez, aperfeiçoar o tratamento com surfactante exógeno.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho do TME no aspirado bucal de recém-nascidos pré-termo para a predição da síndrome do desconforto respiratório.

1.3.1 Objetivos Específicos

I - Verificar a possibilidade da realização do TME no aspirado bucal de recém-nascidos pré-termo.

II - Comparar os resultados do TME do aspirado bucal com o TME do aspirado gástrico de recém-nascidos pré-termo.

III - Determinar o melhor ponto de corte, ou valor de referência, do TME do aspirado bucal para a predição de síndrome do desconforto respiratório.

IV- Estimar o desempenho (sensibilidade e especificidade) do TME do aspirado bucal para diagnosticar a síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido pré-termo.

1.4 Referências bibliográficas

1. Hamvas A. Pathophysiology and management of respiratory distress syndrome. In: Martin RJ FA, Walsh MC, editor. Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Infant. 9th ed. St Louis: Elsevier Mosby; 2011. 1106-16 p.
2. Soll RF. Prophylactic natural surfactant extract for preventing morbidity and mortality in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev. 2000:CD000511.
3. Yost CC, Soll RF. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 2000:CD001456.
4. Stevens TP, Harrington EW, Blennow M, Soll RF. Early surfactant administration with brief ventilation vs. selective surfactant and continued mechanical ventilation for preterm infants with or at risk for respiratory distress syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 2007:CD003063.
5. Finer NN, Carlo WA, Walsh MC, Rich W, Gantz MG, Lupton AR, et al. Early CPAP versus surfactant in extremely preterm infants. N Engl J Med. 2010;362:1970-9.
6. Rojas-Reyes MX, Morley CJ, Soll R. Prophylactic versus selective use of surfactant in preventing morbidity and mortality in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev. 2012;3:CD000510.
7. Fiori HH, Fritscher CC, Fiori RM. Selective surfactant prophylaxis in preterm infants born at < or =31 weeks' gestation using the stable microbubble test in gastric aspirates. J Perinat Med. 2006;34:66-70.

8. Fiori HH, Varela I, Justo AL, Fiori RM. Stable microbubble test and click test to predict respiratory distress syndrome in preterm infants not requiring ventilation at birth. *J Perinat Med.* 2003;31:509-14.
9. Pattle RE, Kratzing CC, Parkinson CE, Graves L, Robertson RD, Robards GJ, et al. Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979;86:615-22.
10. Chida S, Fujiwara T. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome: I. Comparisons with other predictors of fetal lung maturity in amniotic fluid. *Eur J Pediatr.* 1993;152:148-51.
11. Chida S, Fujiwara T, Konishi M, Takahashi H, Sasaki M. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome: II. Prospective evaluation of the test on amniotic fluid and gastric aspirate. *Eur J Pediatr.* 1993;152:152-6.
12. Daniel IW, Fiori HH, Piva JP, Munhoz TP, Nectoux AV, Fiori RM. Lamellar body count and stable microbubble test on gastric aspirates from preterm infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Neonatology.* 2010;98:150-5.
13. Seitz E, Fiori HH, Luz JH, Fiori RM. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol Neonate.* 2005;87:140-4.
14. Vieira AC, Fiori HH, Garcia PC, Piva JP, Munhoz TP, Fiori RM. Lamellar body count and stable microbubble test on tracheal aspirates from infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Pediatr Crit Care Med.* 2012;13:178-82.
15. Steibel G. Teste das microbolhas estáveis e contagem dos corpos lamelares no líquido amniótico para predição da síndrome do desconforto respiratório no

recém-nascido prematuro. [Disseratação de Mestrado]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2008.

16. Fiori HH, Henn R, Baldisserotto M, Bica IG, Fiori RM. Evaluation of surfactant function at birth determined by the stable microbubble test in term and near term infants with respiratory distress. *Eur J Pediatr.* 2004;163:443-8.
17. Dunn MS, Shennan AT, Zayack D, Possmayer F. Bovine surfactant replacement therapy in neonates of less than 30 weeks' gestation: a randomized controlled trial of prophylaxis versus treatment. *Pediatrics.* 1991;87:377-86.
18. Kattwinkel J, Bloom BT, Delmore P, Davis CL, Farrell E, Friss H, et al. Prophylactic administration of calf lung surfactant extract is more effective than early treatment of respiratory distress syndrome in neonates of 29 through 32 weeks' gestation. *Pediatrics.* 1993;92:90-8.
19. Kendig JW, Notter RH, Cox C, Reubens LJ, Davis JM, Maniscalco WM, et al. A comparison of surfactant as immediate prophylaxis and as rescue therapy in newborns of less than 30 weeks' gestation. *N Engl J Med.* 1991;324:865-71.
20. Estorgato GR, Fiori HH, da Silva Ribeiro MA, de Paula D, Garcia PC, Mattiello R, et al. Surfactant deficiency in full-term newborns with transient tachypnea delivered by elective C-section. *Pediatr Pulmonol.* 2016; 51:596-600.