

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**O USO DA ALFA MICROGLOBULINA-1  
PLACENTÁRIA (PAMG-1) NO DIAGNÓSTICO DE  
RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS E SUA  
ASSOCIAÇÃO COM RESULTADOS OBSTÉTRICOS E  
PERINATAIS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Panait Kosmos Nicolaou**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

**O USO DA ALFA MICROGLOBULINA-1 PLACENTÁRIA (PAMG-1)  
NO DIAGNÓSTICO DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS E  
SUA ASSOCIAÇÃO COM RESULTADOS OBSTÉTRICOS E  
PERINATAIS**

**PANAIT KOSMOS NICOLAOU**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Ciências da Saúde, Área de Concentração Promoção e Tecnologia em Saúde, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências da Saúde**.

**Orientador: Prof. Dr. Edson Nunes de Moraes**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Nicolaou, Panait Kosmos

O uso da alfa microglobulina-1 placentária (PAMG-1) no diagnóstico de ruptura prematura de membranas e sua associação com resultados obstétricos e perinatais / Panait Kosmos Nicolaou.-2013.

57 p.; 30cm

Orientador: Edson Nunes Morais

Coorientador: Francisco Maximiliano Gallarreta

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, RS, 2013

1. Ruptura prematura de membranas 2. Membranas amnióticas 3. Proteína PAMG-1 I. Morais, Edson Nunes II. Gallarreta, Francisco Maximiliano III. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Mestrado Profissional em Ciências da Saúde**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**O USO DA ALFA MICROGLOBULINA-1 PLACENTÁRIA (PAMG-1)  
NO DIAGNÓSTICO DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS E  
SUA ASSOCIAÇÃO COM RESULTADOS OBSTÉTRICOS E  
PERINATAIS**

elaborada por  
**Panait Kosmos Nicolaou**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências da Saúde**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Edson Nunes de Moraes (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

**Francisco Maximiliano P. Gallarreta (UFSM)**  
(Banca Examinadora)

**José Mauro Madi (UCS)**  
(Banca Examinadora)

Santa Maria, 2 de agosto de 2013.

## DEDICATÓRIA

*O esforço deste trabalho  
dedico a Deus, aos meus pais,  
Joseana e Kosmos,  
à minha futura esposa, Marília  
e aos meus irmãos,  
Stephanie e Kosmos.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus pelo dom da vida, por iluminar e abençoar os meus passos até este dia.

Aos meus pais, pois eles me educaram e me proporcionaram condições de trilhar o caminho para que este dia chegasse. Saibam que a admiração, o reconhecimento e o amor que sinto por vocês são imensuráveis.

Aos meus irmãos, que desde criança me estimularam a ser um exemplo para eles e, mesmo sem saber, me davam forças para seguir em frente.

À minha noiva, Marília. Obrigado por ter entrado em minha vida, por ter me acompanhado e ter compreendido a distância nos momentos de compromissos. Nosso amor foi fundamental para esta conquista.

Ao meu Orientador, Professor Doutor Edson N. de Moraes. Obrigado por sua experiência, pela confiança depositada em mim e pelos ensinamentos ao longo deste trabalho.

Ao Professor Doutor Francisco M. Gallarreta, Dr. Floriano S. Neto e Dr. Walter S. Neme, que me fortaleceram constantemente na luta por este sonho.

Aos meus colegas e amigos, que de várias maneiras contribuíram para a realização do meu projeto. Em especial, à Caren L. Pozzer, que participou ativamente no estudo.

Ao Hospital Universitário de Santa Maria, que com seu caráter assistencial me proporcionou um ambiente de ensino e pesquisa.

Às gestantes atendidas, que de maneira paciente e colaborativa, aceitaram participar deste trabalho em prol do desenvolvimento da ciência.

A todos o meu muito obrigado!

## RESUMO

**OBJETIVO:** estudar a preditividade diagnóstica do teste da PAMG-1 para pacientes com suspeita de ruptura prematura das membranas amnióticas (RUPREME). **MÉTODOS:** foram selecionadas consecutivamente 50 pacientes com suspeita de RUPREME e alocadas em dois grupos (25 com RUPREME confirmada pelo exame clínico e 25 com RUPREME descartada pelo exame clínico). Todas as pacientes foram submetidas ao teste da PAMG-1. Foram avaliadas a preditividade do teste da PAMG-1, tempo entre a realização do exame e nascimento e tempo de internação materna. Para a análise estatística foi utilizado o teste “*t*” de Student, Mann-Whitney e qui-quadrado. O nível de significância admitido foi  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo para o teste da PAMG-1 foram de 92%. As taxas de falsos positivo e negativo foram de 8%. A acurácia do teste foi 92%. O tempo entre a realização do exame e nascimento foi 29h nas pacientes com teste da PAMG-1 positivo e 287,8h nas pacientes com teste negativo ( $p=0,0001$ ) e o tempo de internação materna foi 29h e 130h, respectivamente ( $p=0,001$ ). **CONCLUSÕES:** o teste da PAMG-1 apresenta elevada preditividade diagnóstica nos casos de suspeita de ruptura prematura de membranas, com baixas taxas de falsos positivo e negativo. Além disso, pode reduzir o tempo ou evitar a hospitalização materna e dessa forma, reduzir gastos com saúde pública.

Palavras-chave: ruptura prematura de membranas, membranas amnióticas, proteína PAMG-1.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** to study the predictivity of PAMG-1 test for patients with suspected premature rupture of membranes (PROM). **METHODS:** fifty patients with suspected PROM were selected and allocated them into two groups (25 with PROM and 25 without PROM). All patients were subjected to the PAMG-1 test. The predictivity of PAMG-1 test was evaluated for the time between the exam and birth and days in hospital after delivery. For statistical analysis we used the “t” test, Mann-Whitney and chi-square. A level of 5% of significance was accepted ( $p < 0,05$ ). **RESULTS:** the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for the PAMG-1 test were 92%. The rates of false positive and false negative were 8%. The accuracy of the test was found to be 92%. The time between the exam and birth was 29h for patients with positive test and 287,8h for patients with negative test ( $p = 0,0001$ ) and maternal hospitalization was 29h and 130h, respectively ( $p = 0,001$ ). **CONCLUSIONS:** the PAMG-1 test has high predictivity in suspected cases of premature rupture of amniotic membranes, with low rates of false positive and false negative test results. Moreover, it can reduce the time of maternal hospital stay or avoid maternal hospitalization and thereby reduce public health expenditures.

**Keywords:** premature rupture of membranes, amniotic membranes, PAMG-1 protein.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Procedimentos para realização do teste da PAMG-1.....	21
Figura 2 – Média e desvio padrão do tempo referido de RUPREME entre os grupos P1 e P2.....	25
Figura 3 – Tempo referido de RUPREME em função do resultado do teste da PAMG-1 (1= positivo e 2= negativo).....	25
Figura 4 – Tempo decorrido entre a realização do teste da PAMG-1 e o nascimento.....	27
Figura 5 – Tempo de internação materna para as pacientes conforme o resultado do teste da PAMG-1.....	28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fração correspondente da idade gestacional expressa em algarismo decimal.....	19
Tabela 2 – Dados demográficos das gestantes e seus conceptos, relativos ao nascimento dos grupos P1 e P2.....	22
Tabela 3 – Ocorrência de nascimento pré-termo nos grupos P1 e P2.....	23
Tabela 4 – Idade gestacional ao nascimento conforme resultado do teste da PAMG-1.....	23
Tabela 5 – Resultados do exame especular estéril e teste da PAMG-1 para a amostra estudada.....	24
Tabela 6 – Tempo referido de RUPREME nos 48 casos estudados (24 para cada grupo).....	24
Tabela 7 – Tempo entre exame e nascimento, idade gestacional no parto, Capurro, peso fetal e tempo de internação materna conforme o resultado do teste da PAMG-1.....	26

## LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	36
Apêndice B – Ficha de avaliação médica.....	38
Apêndice C – Comprovante de submissão na Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia.....	39
Apêndice D – Artigo científico.....	40

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>Objetivos</b> .....	13
Objetivo geral.....	13
Objetivos específicos.....	13
<b>Justificativa</b> .....	13
<b>DESENVOLVIMENTO</b> .....	15
<b>Revisão bibliográfica</b> .....	15
<b>Metodologia</b> .....	17
<b>Resultados</b> .....	22
<b>Discussão</b> .....	28
<b>CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34
<b>APÊNDICES</b> .....	36

## INTRODUÇÃO

O parto é um processo fisiológico através do qual os produtos da concepção ganham vida ao deixar o útero e alcançar o mundo exterior. Ele ocorre de forma semelhante em todas as espécies vivíparas, pois obedece uma seqüência lógica de eventos, como ativações bioquímicas, dilatação cervical, contrações uterinas. O rompimento das membranas ovulares também faz parte do mecanismo do parto e, geralmente, ocorre após o início da atividade miométrial (Park, Lee *et al.*, 2007).

A ruptura prematura de membranas (RUPREME) é definida como o rompimento espontâneo das membranas fetais antes de iniciado o trabalho de parto. Ela pode ocorrer em qualquer fase da gestação. Porém, quando se der antes de trinta e sete semanas completas, é conhecida como RUPREME pré-termo (Lee, Park *et al.*, 2007).

A descrição de sua incidência é variável conforme a literatura, podendo ocorrer desde 4 até 18% de todas as gestações. Nos partos de termo, encontra-se uma incidência entre 3 e 22%, enquanto nos partos pré-termo, 15 a 40% (Araujo, Feferbaum *et al.*, 1994).

A RUPREME é um dos diagnósticos mais comumente associados ao nascimento pré-termo e complicações neonatais com necessidade de internação em terapia intensiva neonatal (Cousins, Smok *et al.*, 2005). Enfermidades como doença da membrana hialina (DMH), hemorragia intraventricular, enterocolite necrosante (EN), persistência do ducto arterioso, retinopatia da prematuridade e sepse são as causas mais significativas de morbimortalidade nesses pacientes. Limitações de longo prazo como doença pulmonar crônica, alterações neurológicas, entre elas paralisia cerebral e cegueira, síndrome do intestino curto e atraso do desenvolvimento também podem ocorrer (Alexander e Cox, 1996). A RUPREME pré-termo é a principal causa de nascimento pré-termo e responsável por, aproximadamente, 20% dos óbitos perinatais nos Estados Unidos (Caughey, Robinson *et al.*, 2008).

Na gênese da contaminação intra-amniótica ou infecção fetal estão as bactérias *Escherichia coli*, o *Streptococcus* do grupo D e os *Staphylococcus aureus*, entre os principais agentes etiopatogênicos (Araujo, Feferbaum *et al.*, 1994).

Em relação aos potenciais riscos para a gestação, estão aumentados os eventos relacionados ao cordão umbilical, como compressão e prolapso, à placenta, como descolamento prematuro de placenta (DPP) e à cavidade amniótica, como redução de seu volume e risco infeccioso (Cousins, Smok *et al.*, 2005).

O risco materno deve ser considerado concomitantemente. Mais de 30% das pacientes com RUPREME desenvolveram infecções puerperais, como endometrite e abscessos

pélvicos, com necessidade de hospitalizações prolongadas, sob risco de sepse e, mais raramente, óbito (Alexander e Cox, 1996).

O diagnóstico rápido de RUPREME e o tratamento adequado podem melhorar os resultados maternos e perinatais. Durante este manejo, deve-se contrapor o risco de prolongar a gestação e as conseqüências relativas à interrupção precoce (Medina e Hill, 2006).

A capacidade de diagnosticar corretamente os casos de RUPREME no primeiro momento é fundamental para otimizar os resultados perinatais e minimizar complicações (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011). Um resultado falso-negativo pode levar a não instituição de medidas padrões e aumentar a morbidade infecciosa da mãe e do feto. Por outro lado, um diagnóstico falso-positivo, pode acarretar intervenções inapropriadas, como hospitalização, administração de corticóides e antibióticos ou, até mesmo, indução do parto (Abdelazim e Makhlof, 2011).

O diagnóstico acurado de RUPREME permanece sendo um problema freqüente na prática obstétrica. A suspeita é levantada com base na história relatada pela paciente (Abdelazim e Makhlof, 2011). O diagnóstico clínico pode ser fácil quando a paciente apresenta grande perda líquida via vaginal ou quando um fluido claro pode ser visualizado atravessando o canal cervical durante o exame físico. No entanto, em até 47% dos casos, médicos ainda apresentam dúvidas em relação ao diagnóstico de RUPREME pré-termo baseado apenas na história clínica e no exame especular estéril. O problema é ainda maior quando a perda líquida é minúscula e/ou intermitente e a ultrassonografia demonstra quantidade normal ou reduzida de líquido amniótico (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011).

A indisponibilidade de um exame não invasivo, padrão ouro para o diagnóstico de RUPREME, resultou no aparecimento de inúmeros testes utilizando marcadores bioquímicos (Lee, Park *et al.*, 2007).

A utilização do teste da alfa microglobulina-1 placentária (PAMG-1) no diagnóstico de RUPREME demonstrou sensibilidade de 99% e especificidade de 100%, podendo ser usado em qualquer fase da gestação (Caughey, Robinson *et al.*, 2008). O teste apresenta, ainda, a vantagem de não necessitar exame especular estéril, ser armazenado a temperatura ambiente e poder ser realizado no próprio domicílio (Tagore e Kwek, 2010). No entanto, existem poucos estudos prospectivos de sua *performance* e desfechos clínicos. Isso demonstra a necessidade de novos estudos para testar essa técnica que parece ser promissora (Lee, Park *et al.*, 2007).

## **Objetivos**

### Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho é estudar a preditividade diagnóstica do teste da alfa microglobulina-1 placentária (PAMG-1) para pacientes com suspeita diagnóstica de ruptura prematura das membranas amnióticas.

### Objetivos específicos

Estabelecer, além da sensibilidade, especificidade, valores preditivos (positivo e negativo), as taxas de falsos positivo e negativo do teste da PAMG-1;

Estabelecer as limitações e a relação entre o custo e benefício do teste, incluindo o tempo de internação e alta hospitalar;

Estudar os desfechos maternos e perinatais.

## **Justificativa**

A suspeita de RUPREME é uma condição clínica freqüente e sua confirmação diagnóstica pode gerar transtornos na gravidez, como medo, ansiedade, internações prolongadas, intervenções desnecessárias, gastos em saúde pública e resultados perinatais adversos.

Os testes comumente utilizados no diagnóstico de RUPREME apresentam baixa sensibilidade e especificidade, o que compromete a confiabilidade do resultado e pode acarretar resultados perinatais indesejáveis.

Em virtude disso, novos estudos têm buscado um teste de fácil aplicação, altamente confiável, reproduzível e que, ao fornecer o diagnóstico, auxilie a equipe médica nas tomadas de decisão.

No Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), não existe um método diagnóstico não invasivo padronizado para RUPREME. As técnicas utilizadas são decorrentes da habilidade de cada profissional, sem que haja uma rotina pré-estabelecida. Dessa forma, as pacientes ficam hospitalizadas por longos períodos de tempo na busca do diagnóstico definitivo.

Estudos que utilizaram a PAMG-1 demonstraram altos índices de sensibilidade e especificidade. A confirmação dessas características poderia torná-lo um método de eleição em pacientes com suspeita de RUPREME e passar a ser utilizado na investigação dessas pacientes no Centro Obstétrico do HUSM. Com isso, justifica-se plenamente a realização do presente estudo.

## DESENVOLVIMENTO

### Revisão bibliográfica

Historicamente, nos anos cinquenta e sessenta do século XX, estudos não aleatórios incluindo RUPREME e RUPREME pré-termo identificaram aumento na morbidade e mortalidade de mulheres e recém nascidos quando as membranas estavam rotas por período maior que 24 horas. A primeira evidência de que a conduta expectante poderia não ser deletéria para os resultados perinatais surgiu em 1979, quando um estudo prospectivo em 188 mulheres demonstrou não haver aumento de morbidade infecciosa materna ou neonatal com tal conduta ( Kappy, Cetrulo *et al.*, 1979 apud Krupa, Cecatti *et al.*, 2005).

Em 1927, Gold descreveu um método para diagnóstico de RUPREME que detectava a alteração de pH na cavidade vaginal. O meio deixava de ser ácido (pH 4.5-6.0) e tornava-se básico ao ser preenchido com líquido amniótico (pH 7.1-7.3). Esse método, que utilizava o papel de tornassol, foi largamente aceito e ainda hoje é utilizado, conhecido como teste da nitrazina. Uma de suas limitações é que, passadas algumas horas da ruptura o mesmo resulta freqüentemente, em diagnóstico falso-negativo. (Gold, 1927 apud Friedman e Mcelin, 1969). Vários estudos demonstraram outras limitações. Resultado falso-positivo pode ser decorrente da contaminação da mucosa vaginal com urina, sêmen, sangue ou agentes anti-sépticos. As taxas de sensibilidade e especificidade do método podem variar de 90-97% e 16-70%, respectivamente (Caughey, Robinson *et al.*, 2008). Segundo Ladfors, as taxas de falso-positivo e falso-negativo são 17,4% e 9,7%, respectivamente (Ladfors, Mattson *et al.*, 1997).

Kardos e Tamasi, em 1955, descreveram pela primeira vez o padrão de cristalização do líquido amniótico. Esse teste, conhecido como *fern test*, também foi aceito e difundido mundialmente (Kardos e Tamasi, 1955 apud Friedman e Mcelin, 1969). Resultado falso-positivo pode ser decorrente de impressões digitais na lâmina de análise, contaminação com sêmen ou muco cervical. Resultado falso-negativo pode ocorrer por erro de técnica ou contaminação da amostra com sangue. A sensibilidade é 51% e a especificidade 70% em pacientes fora de trabalho de parto e 98% e 88%, respectivamente, para pacientes em trabalho de parto (Caughey, Robinson *et al.*, 2008). As taxas de falso-positivo e falso-negativo podem variar conforme a literatura, porém, se aceitam valores de 5% e 12,9%, respectivamente (Cousins, Smok *et al.*, 2005).

À exceção da visualização direta do líquido amniótico fluindo pelo canal cervical, esses testes apresentam limitações em termos de acurácia, custo e técnica de execução (Caughey, Robinson *et al.*, 2008). Além disso, tornam-se progressivamente menos acurados com o passar do tempo desde a ocorrência da ruptura. Em casos de RUPREME prolongada, eles não fornecem benefício diagnóstico em relação ao simples exame clínico (Cousins, Smok *et al.*, 2005). Some-se ainda o fato de que a simples evidência ultrassonográfica de diminuição do índice de líquido amniótico não confirma diagnóstico de RUPREME (Tagore e Kwek, 2010).

Embora considerado teste padrão ouro para o diagnóstico de RUPREME, a amnioinfusão com índigo carmine (1mL de índigo carmine em 9mL de solução salina) é procedimento invasivo, com riscos inerentes para mãe e feto. Infecção, ruptura das membranas amnióticas e DPP devem ser lembrados como eventos possíveis de ocorrerem. Apresenta limitações de demandar profissional capacitado e ambiente hospitalar para realização. O teste consiste na passagem de fluído azul pela vagina 20 a 30 minutos após a injeção do corante na cavidade amniótica. O corante azul de metileno deve ser evitado, pois seu uso foi associado à hiperbilirrubinemia e anemia hemolítica fetal (Caughey, Robinson *et al.*, 2008).

A falta de um exame não invasivo e confiável para o diagnóstico de RUPREME resultou no aparecimento de inúmeros testes utilizando marcadores bioquímicos (Lee, Park *et al.*, 2007). A  $\alpha$ -fetoproteína, fibronectina fetal e prolactina vaginal não demonstraram acurácia requerida a um teste padrão ouro (Cousins, Smok *et al.*, 2005). O fator de crescimento insulina tipo I ligado à proteína (IGFBP-1) apresentou acurácia de 97%. No entanto, o decréscimo de sua concentração na cavidade vaginal é dependente do tempo de ruptura e o exame deve ser realizado nas primeiras horas após a suspeita diagnóstica (Erdemoglu e Mungan, 2004). Outros estudos com a  $\beta$ -gonadotrofina coriônica, uréia, creatinina e lactato também foram realizados. Porém, apresentaram resultados variáveis (Caughey, Robinson *et al.*, 2008).

Em 1975, Petrunin isolou a alfa microglobulina-1 placentária (PAMG-1) do líquido amniótico (Cousins, Smok *et al.*, 2005). A PAMG-1 é uma glicoproteína de 34 quilo Daltons, sintetizada pela decídua e abundante no líquido amniótico (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011). Ela representa 2 a 10% de todas as proteínas presentes na segunda metade da gravidez (Boltovskaya, Zaraiskii *et al.*, 1991). Sua concentração na cavidade amniótica varia de 2.000 a 25.000ng/mL. No sangue materno esse valor encontra-se entre 5 e 25ng/mL e nas secreções vaginais 0.05 a 0.2ng/mL (Cousins, Smok *et al.*, 2005). Quando existe acúmulo de secreção

vaginal, seja corrimento patológico, sangue ou soro, a proteína pode atingir um nível máximo de 3ng/mL, diferentemente quando ocorre a RUPREME, em que a concentração aumenta significativamente (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011).

A contaminação do material coletado com grande quantidade de sangue, mesmo se superior a 50% de toda amostra, demonstrou que não interfere no resultado do teste. Da mesma forma com sêmen, urina e outras substâncias que não contenham PAMG-1 (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011).

O FDA (*Food and Drug Administration*) e a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) aprovaram recentemente, um teste para detecção da PAMG-1. Através da imunocromatografia, o teste detecta a presença da proteína em concentrações acima de 5ng/mL (Neil e Wallace, 2010; Lee, Romero *et al.*, 2012). Lee et al., ao avaliarem 184 pacientes com RUPREME, encontraram sensibilidade de 98,7% e especificidade de 87,5% para o teste da PAMG-1 (Lee, Park *et al.*, 2007).

Uma comparação entre os testes da PAMG-1, IGFBP-1 e nitrazina para diagnóstico de RUPREME concluiu que o primeiro teste é o mais acurado, com maiores sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo (Tagore e Kwek, 2010).

Ao avaliarem gestantes com membranas intactas e trabalho de parto pré-termo, Lee, Seung et al., encontraram que, aproximadamente, 20% dessas pacientes apresentam teste da PAMG-1 positivo. Elas também apresentam maior risco para parto pré-termo, infecção intra-amniótica, menor intervalo de tempo entre o exame e nascimento e resultados perinatais adversos em relação às pacientes nas quais o teste foi negativo (Lee, Romero *et al.*, 2012).

## **Metodologia**

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sob Certificado de Apresentação para Apreciação Ética número 04181912.6.0000.5346. Entre maio de 2012 e maio de 2013 foi realizado um estudo transversal, prospectivo e analítico, com uma amostra de conveniência, constituída por pacientes que procuraram atendimento no Centro Obstétrico do HUSM.

Foram convidadas a participar do estudo pacientes que apresentavam sintomatologia de RUPREME. Para fazer parte do projeto, a paciente deveria ler e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os critérios de inclusão foram: mulheres grávidas, com idade entre 18 e 50 anos, gestação única entre 24 e 42 semanas, pacientes com sintomatologia de RUPREME ou RUPREME pré-termo e assinatura do TCLE.

Foram excluídas da pesquisa as pacientes com as seguintes características: sangramento vaginal significativo, placenta prévia, exame obstétrico sob toque vaginal realizado imediatamente antes do protocolo da pesquisa e pacientes em trabalho de parto ativo.

Para uma certeza no cálculo amostral, utilizou-se o programa fornecido pelo Laboratório de Epidemiologia e Estatística do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, que pode ser acessado *on line* através do seguinte endereço eletrônico: <http://www.lee.dante.br/pesquisa/amostragem/amostra.html>

No estudo não pareado, estima-se uma proporção de expostos no grupo de estudo de 50% e 95% no grupo de controle. Para uma análise rigorosa do teste da PAMG-1 foi utilizado um poder de teste de 90%, com nível de significância de 1%. Com isso, a amostra resultante foi de 23 casos para cada grupo. Utilizando uma previsão de perdas de 10%, a amostra total foi calculada em 50 pacientes.

As pacientes foram incluídas no estudo apenas em sua apresentação inicial. Ou seja, nenhuma paciente foi recrutada novamente.

Após a coleta do TCLE (apêndice A) as pacientes foram encaminhadas para o atendimento médico, no qual eram realizados anamnese detalhada e exame físico pormenorizado. O roteiro estabelecido e a ficha na qual os dados eram transcritos estão demonstrados no apêndice B. Todas as avaliações foram realizadas pelo próprio pesquisador.

O cálculo da idade gestacional (IG) foi realizado através de exame ultrassonográfico de primeiro trimestre ou da data da última menstruação, quando lembrada de maneira precisa. A forma mais comumente utilizada para expressão da IG utiliza após o valor numérico das semanas um sinal de adição e um algarismo, variável entre 1 e 6, para expressar o correspondente em dias. Visando padronizar os dados e tabulá-los no programa estatístico, optou-se por transformar essa apresentação em outra, expressa em algarismo decimal. A tabela a seguir foi construída para facilitar esse mecanismo.

Tabela 1 – Fração correspondente da idade gestacional expressa em algarismo decimal

Idade Gestacional	Fração correspondente
+1	,1
+2	,3
+3	,4
+4	,6
+5	,7
+6	,9

Durante o exame físico, as pacientes foram divididas em dois grupos. Quando o examinador observava acúmulo de líquido amniótico em fundo de saco vaginal ou líquido fluindo através do orifício cervical o diagnóstico de RUPREME era confirmado e a paciente era alocada no grupo P1. Nas pacientes em que não foi visualizado líquido amniótico coletado ou fluindo pelo orifício cervical, excluiu-se o diagnóstico de RUPREME e as mesmas foram alocadas no grupo P2.

Em seguida, todas pacientes foram submetidas ao teste da PAMG-1. O mesmo foi realizado de acordo com as instruções do fabricante, contidas na embalagem do produto. O pesquisador realizava o teste, mas não conferia o resultado. Esse trabalho foi exercido por um aluno do curso de medicina, previamente treinado para tal, que o anotava e guardava em envelope lacrado. O intuito era que a rotina de avaliação e conduta das pacientes atendidas não fosse modificada pelo resultado do teste. Ao final da coleta de toda amostra, os envelopes foram abertos, os resultados conferidos e anotados nas fichas de avaliação de cada paciente.

As pacientes alocadas no grupo P1 foram manejadas conforme a conduta de RUPREME do Serviço de Obstetrícia do HUSM. No grupo P2, as gestantes foram hospitalizadas até obterem um diagnóstico definitivo a cerca do quadro em investigação.

O desfecho de cada paciente foi analisado através de consulta ao prontuário médico, realizado pelo pesquisador responsável. Os dados pertinentes foram anotados na ficha de avaliação clínica de cada uma das participantes.

As principais variáveis estudadas foram: idade materna, paridade, idade gestacional no momento do exame, tempo de RUPREME referido pela paciente, presença de trabalho de parto pré-termo (TPPT), resultado do exame especular, resultado do teste da PAMG-1, tempo decorrido entre a realização do teste e o nascimento, via de parto, IG ao nascimento, peso fetal, Apgar de 1º e 5º minutos, tempo de internação materna, internação em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN), dias de internação em UTIN, complicações neonatais, complicações maternas, antibioticoterapia materna e neonatal.

### Técnica dos testes realizados

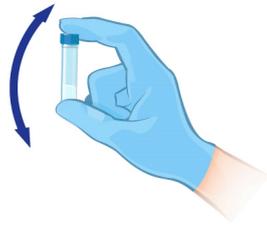
- Técnica para realização do exame especular: foi utilizado material estéril, sem o uso de soluções lubrificantes e/ou anti-sépticas, com introdução de especulo na cavidade vaginal para visualização das paredes, fundo de saco de Douglas e orifício cervical externo durante 1min. Quando o líquido claro era visualizado o exame encerrava imediatamente. Caso o examinador não visualizasse líquido coletado, movimentos sutis com o aparelho de exame eram realizados na tentativa de flagrar pequenas drenagens pelo orifício cervical. O exame era finalizado assim que a paciente referisse desconforto.

- Técnica para a realização do teste da PAMG-1: após a retirada do especulo da cavidade vaginal, o examinador iniciava a realização do teste da PAMG-1. O frasco-teste era apanhado pela tampa e agitado, de forma que todo o solvente ficasse depositado no fundo do frasco. Em seguida, apanhava-se o *swab* pelo cabo com o cuidado de não contaminá-lo em outras superfícies, afastava-se os lábios vaginais e introduzia-se a ponta do *swab* de 5 a 7cm na cavidade vaginal. O aparato permanecia na vagina durante 1min e era retirado. Na seqüência, a mesma extremidade era introduzida no frasco-teste e agitada de forma circular durante 1min. Ao retirá-la, a ponta branca da fita-teste era colocada em contato com o solvente do frasco, por tempo entre 5 e 10min. Por fim, a fita era colocada sobre superfície limpa, seca e plana para ser analisada.

O resultado do exame é informado através do surgimento de linhas vermelhas na fita-teste. Com o aparecimento de apenas uma linha (controle), o teste é dito negativo para RUPREME. Na presença de duas linhas, controle e teste, o teste indica ruptura de membranas. Caso não apareça nenhuma linha no local esperado, o teste é considerado inválido. A figura 1 demonstra os procedimentos citados acima.

Para a análise estatística, os dados foram tabulados e armazenados através do *software* SPSS15.0 (SPSS Inc., Chicago, II, USA). Os resultados foram analisados sob metodologia descritiva e quantitativa. Os resultados para variáveis contínuas foram demonstrados sob a forma de médias e desvio padrão. A análise estatística quando pertinente foi realizada através do teste “*t*” de Student e de Mann-Whitney. Para as variáveis categóricas foi utilizada a estatística não-paramétrica com teste do qui-quadrado. Considerou-se como significante um  $\alpha=5\%$  ( $p<0,05$ ).

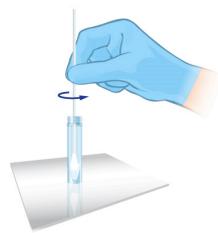
Figura 1 – Procedimentos para realização do teste da PAMG-1



Agitar o frasco teste



Swab vaginal (1 min)



Contato do swab (1 min)



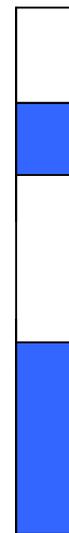
Contato da fita teste (5 min)



Teste Negativo



Teste Positivo



Teste Inválido

## Resultados

Os resultados do presente estudo serão apresentados sob a forma de tabelas e/ou figuras, quando pertinentes.

Na tabela 2 encontram-se os dados demográficos das gestantes estudadas e seus conceitos.

Tabela 2 – Dados demográficos das gestantes e seus conceitos, relativos ao nascimento dos grupos P1 e P2

Variável	Grupo P1				Grupo P2				p
	n	$\bar{x}$	$\sigma$	(%)	n	$\bar{x}$	$\sigma$	(%)	
Idade materna (a)	25	26,6	8,1		25	24,8	6,9		NS
Paridade (g)	25	2,4	1,8		25	2,4	1,9		NS
IG ao exame (sem)	25	36,6	3,5		25	35,5	3,7		NS
Via de parto									
- Vaginal	13			(52,0)	10			(40%)	NS
- Cesáreo	12			(48,0)	15			(60%)	NS
IG no parto (sem)	25	36,8	3,4		25	37,2	2,7		NS
Capurro (sem)	25	37,1	3,1		25	37,6	2,6		NS
Peso fetal (g)	25	2826,6	684,0		25	2843,4	592,9		NS
Apgar	22				24				
- 1º min		8,4	1,0			8,5	1,0		NS
- 5º min		9,6	0,6			9,7	0,5		NS

n: número de casos;  $\bar{x}$  : média;  $\sigma$ : desvio padrão; (%): porcentagem; p: nível de significância; (a): anos; (g): gramas; (s); (sem): semanas; NS: não-significante

Os dados referentes aos grupos P1 e P2 para as variáveis contidas na tabela acima não apresentaram diferença quando comparados entre si ( $p=NS$ ). A via de parto mais comum para as pacientes foi a operação cesariana, 54% da amostra, sendo que 46% foram submetidas ao parto vaginal. A indicação mais comum de cesárea foi iteratividade, responsável por 33% dos casos. A utilização de antibióticos nas gestantes ocorreu em apenas 6 casos (12%).

Das 25 pacientes do grupo P1, 14 delas tinham idade gestacional de termo e 11 delas evoluíram para parto em até 24h (78%). Dentre as 11 pacientes que apresentavam gestações pré-termo, entre 29 e 37 semanas incompletas, 27% delas retardaram o parto em mais de 48h (3/11 casos). A ocorrência de nascimento pré-termo (abaixo de 37 semanas gestacionais) para os grupos P1 e P2 está representada na tabela 3.

Tabela 3 – Ocorrência de nascimento pré-termo nos grupos P1 e P2

IG \ Grupos	< 37 sem		≥ 37 sem		Total	
	n	%	n	%	N	%
P1	11	44.0	14	56.0	25	50
P2	9	36.0	16	64.0	25	50
Total	20	40.0	30	60.0	50	100

Entre as pacientes com teste da PAMG-1 positivo, 14 delas apresentavam idade gestacional de 37 semanas ou mais e dessas, 13 evoluíram para o parto em até 24 h (93%). A tabela 4 exhibe os dados relativos à idade gestacional ao nascimento conforme o resultado do teste da PAMG-1 apresentado pelas pacientes.

Tabela 4 – Idade gestacional ao nascimento conforme resultado do teste da PAMG-1

PAMG-1 \ IG	< 37 sem		≥ 37 sem		Total	
	n	%	n	%	N	%
(+)	11	44.0	14	56.0	25	50
(-)	9	36.0	16	64.0	25	50
Total	20	40.0	30	60.0	50	100

Na tabela 5, estão apresentados os dados do exame especular estéril e do teste da PAMG-1 para diagnóstico de RUPREME dos grupos P1 e P2. Testes de probabilidades diagnósticas foram realizados a partir dos dados da tabela para calcular a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, taxas de falsos positivo e negativo e acurácia. Para tanto, utilizou-se das seguintes fórmulas para as suas determinações:

$$S = a / a + c$$

$$E = d / b + d$$

$$VPP = a / a + b$$

$$VPN = d / c + d$$

$$TFP = 1 - S$$

$$TFN = 1 - E$$

$$A = a + d / a + b + c + d$$

Quando testada a associação entre o resultado do exame especular estéril (*pooling*) e o resultado da PAMG-1 com o teste do qui-quadrado, verificou-se uma associação altamente significativa entre ambos ( $\chi^2 = 35,28; p < 0,0001$ ). Dentre os cinquenta testes realizados, não houve perdas ou resultados inválidos.

Tabela 5 – Resultados do exame especular estéril e teste da PAMG-1 para a amostra estudada

	<i>Pooling (+)</i> n	<i>Pooling (-)</i> n	Total
Teste (+)	23 (a)	2 (b)	25
Teste (-)	2 (c)	23 (d)	25
Total	25	25	50

Sensibilidade (S) = 92,0%; Especificidade (E) = 92,0%; Valor Preditivo Positivo (VPP) = 92,0%; Valor Preditivo Negativo (VPN) = 92,0%; Taxa de Falso Positivo (TFP) = 8,0%; Taxa de Falso Negativo (TFN) = 8,0%; Acurácia (A) = 92,0%

$$\chi^2 = 35,28; p < 0,0001$$

A sensibilidade e especificidade para o teste da PAMG-1 foram de 92%. Da mesma forma, os valores preditivos positivo e negativo foram 92%. A taxa de exames falso-positivos foi de 8%, assim como a taxa de falso-negativos, 8%. A acurácia do teste da PAMG-1 para diagnóstico de RUPREME foi de 92%.

Na tabela 6, estão expressos os valores do tempo de ruptura prematura de membranas referido pelas pacientes para os grupos P1 e P2. Foram excluídos dois casos, um de cada grupo, pois os mesmos apresentavam tempos anormalmente elevados.

Tabela 6 – Tempo referido de RUPREME nos 48 casos estudados (24 para cada grupo)

	Grupo P1				Grupo P2				<i>p</i>
	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	
Tempo (h)	7,25	7,0	0	26	16,5	12,5	1	48	<0,004*

$\bar{x}$  : média;  $\sigma$ : desvio padrão; m: valor mínimo; M: valor máximo; *p*: nível de significância

\* teste de Mann-Whitney

A análise dos resultados realizada pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney demonstrou haver uma diferença estatística altamente significativa entre os dois grupos estudados ( $p < 0,004$ ), com menor tempo de RUPREME para as pacientes de P1. À tabela 6 corresponde a figura 2.

A análise individualizada revela que no grupo P1 uma paciente apresentou tempo de perda líquida superior a 24 horas e o resultado do teste da PAMG-1 foi positivo. O tempo de RUPREME referido pelas pacientes está representado na figura 3 em função do resultado obtido com a utilização do teste da PAMG-1 (1= positivo, 2= negativo) para cada uma delas.

Figura 2 – Média e desvio padrão do tempo referido de RUPREME entre os grupos P1 e P2

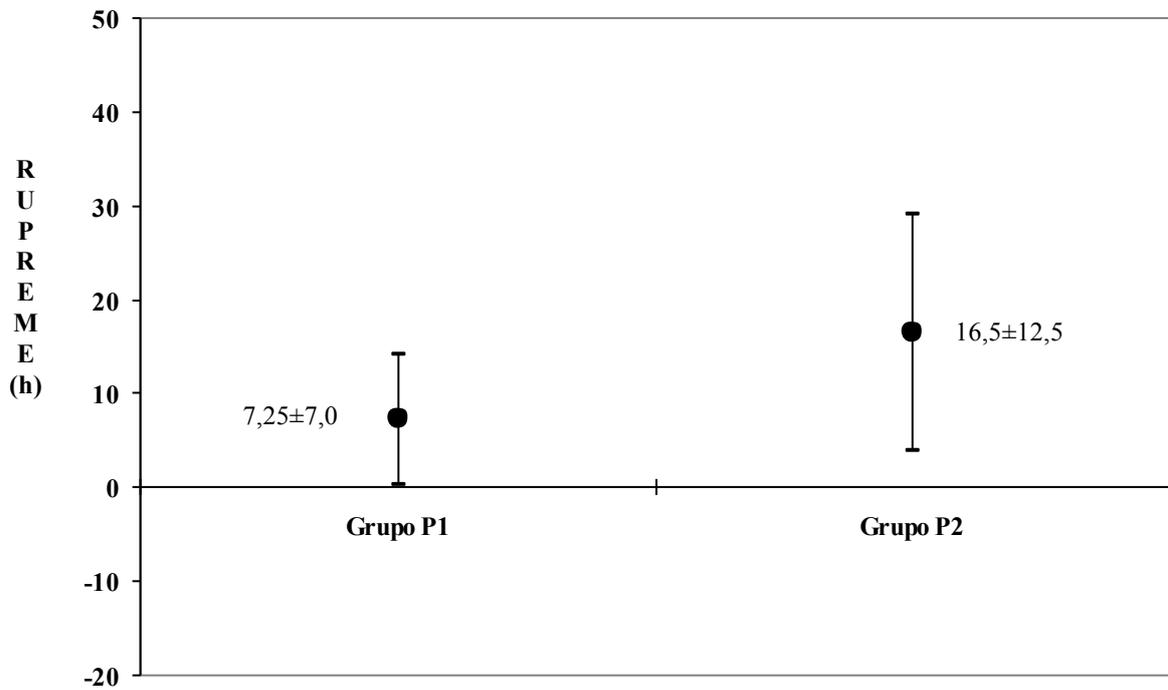
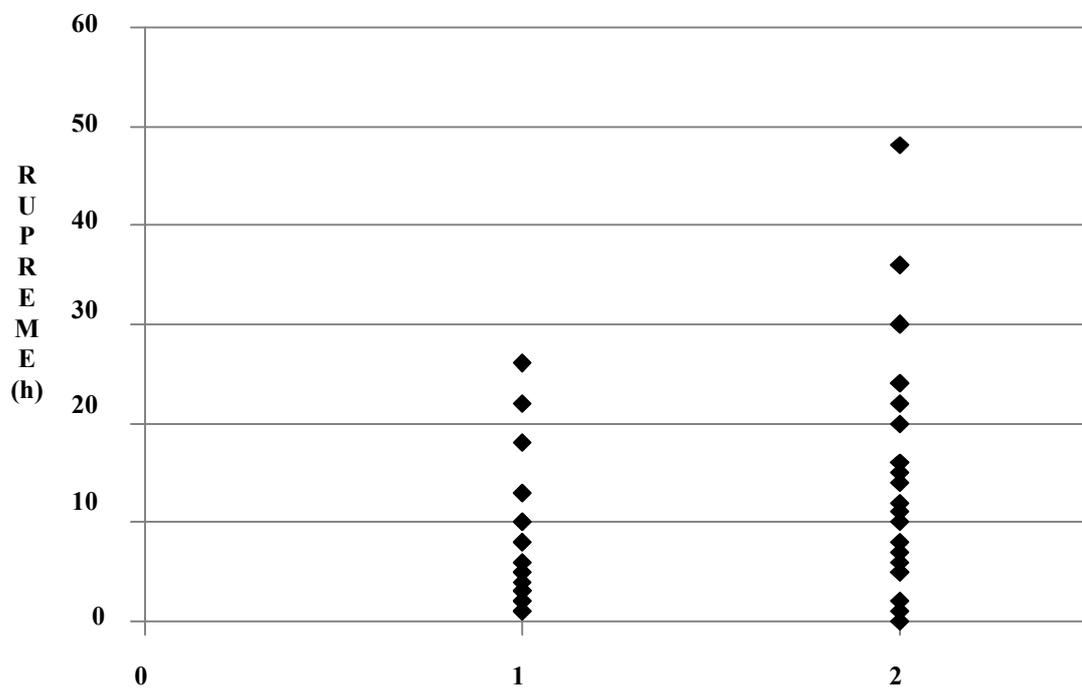


Figura 3 – Tempo de RUPREME em função do resultado do teste da PAMG-1 (1= positivo, 2= negativo)



Na tabela 7 estão apresentados os dados referentes ao tempo de intervalo entre a realização do teste e nascimento (TEN), idade gestacional ao nascimento, Capurro, peso fetal e tempo de internação materna (TIM) conforme o resultado do teste da PAMG-1.

Observa-se que o tempo decorrido desde o momento da realização do teste até o nascimento foi significativamente maior nas pacientes com teste da PAMG-1 negativo. Enquanto a média e o maior TEN no grupo com teste da PAMG-1 positivo foram de 29h e 332h, respectivamente, no grupo com teste da PAMG-1 negativo foram de 287,8h e 1080h, respectivamente ( $p=0,0001$ ). O tempo de internação materna médio para o grupo com teste da PAMG-1 positivo foi de 29h e 130h para o grupo com teste negativo. A diferença entre os grupos foi significativa, com  $p=0,001$ . O maior TIM no grupo com teste positivo foi de 48h, enquanto no grupo com teste da PAMG-1 negativo foi de 1080h. Em relação à idade gestacional, Capurro e peso fetal ao nascimento, não houve diferença significativa entre os dois grupos ( $p>0,05$ ). A figura 4 e 5 correspondem à tabela 7.

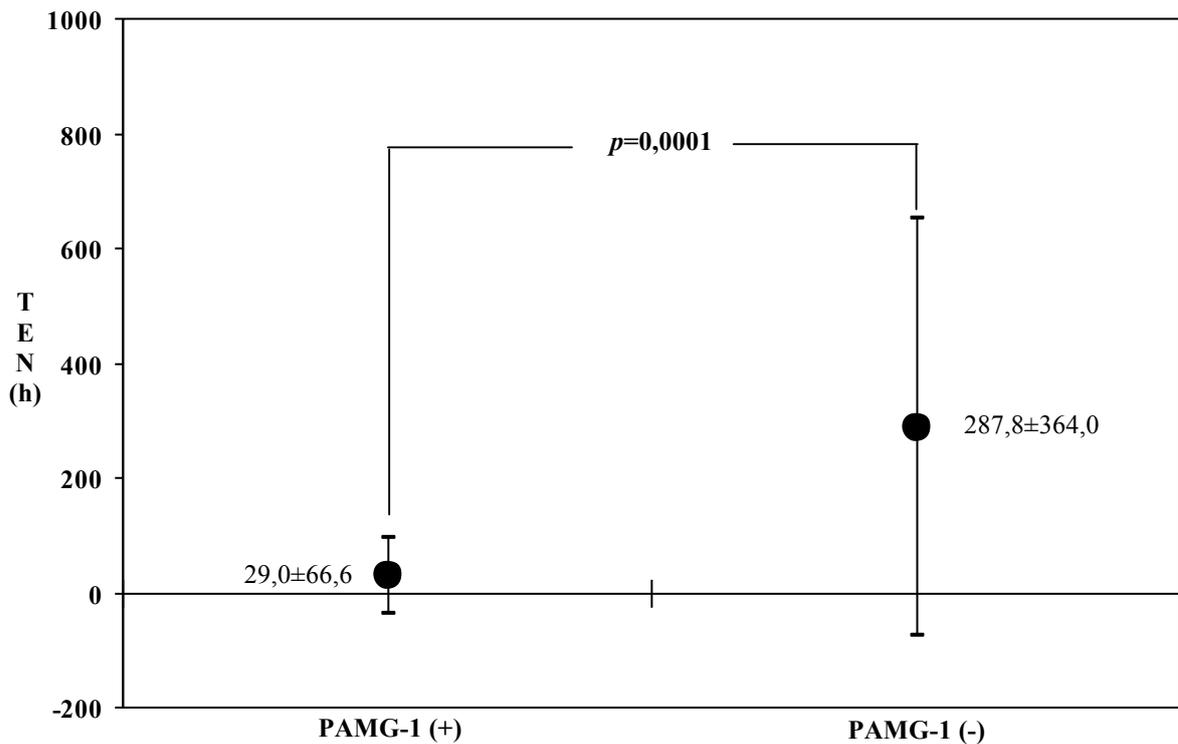
Tabela 7 – Tempo entre exame e nascimento, idade gestacional no parto, Capurro, peso fetal e tempo de internação materna conforme o resultado do teste da PAMG-1

	PAMG-1 (+) n=25				PAMG-1 (-) n=25				$p^*$
	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	
TEN (h)	29,0	66,6	2,0	332,0	287,8	364,0	4,0	1080,0	0,0001
IGP (sem)	36,8	3,5	29,1	41,3	37,1	2,6	29,1	40,7	0,9
Capurro (sem)	37,2	3,2	29,0	41,1	37,5	2,5	32,0	41,0	1,0
Peso fetal (g)	2811,0	694,0	1160,0	4140,0	2858,0	581,1	1375,0	4200,0	0,9
TIM (h)	29,0	9,4	24,0	48,0	130,0	239,5	24,0	1080,0	0,001

$\bar{x}$  : média;  $\sigma$ : desvio padrão; m: valor mínimo; M: valor máximo;  $p$ : nível de significância; TEN: tempo entre exame e nascimento; (h): horas; IGP: idade gestacional no parto; (sem): semanas; (g): gramas; TIM: tempo de internação materna

\* Teste de Mann-Whitney

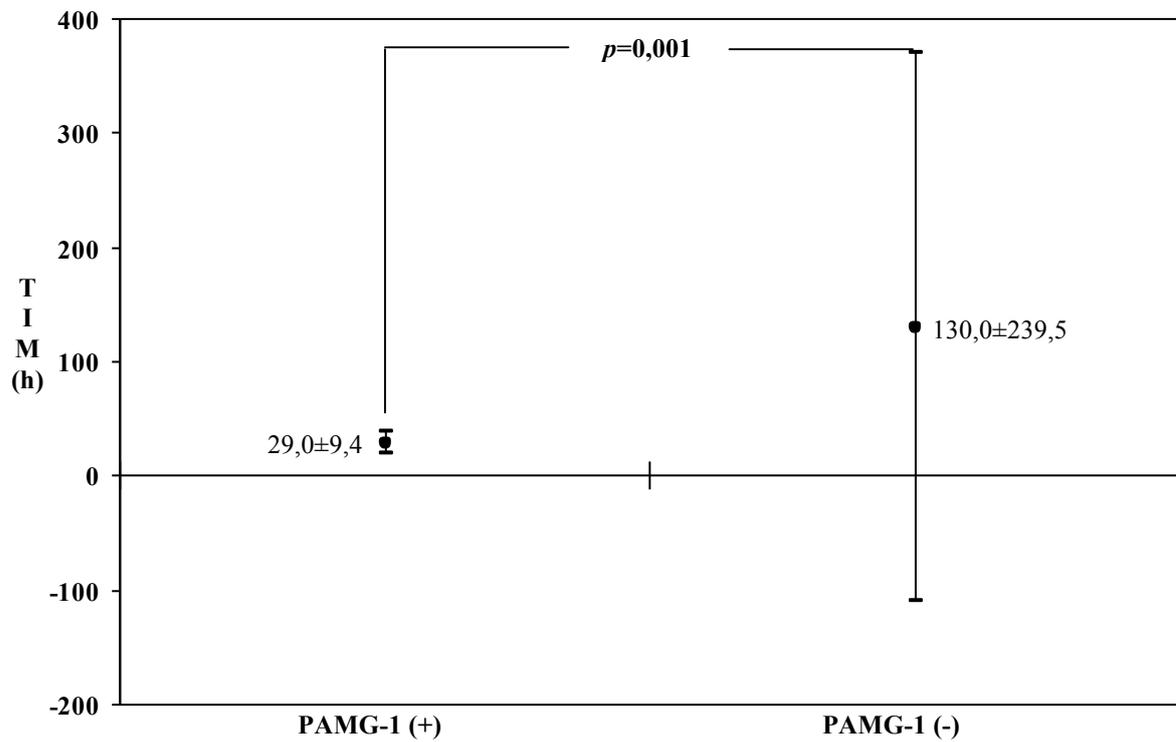
Figura 4 – Tempo decorrido entre a realização do teste da PAMG-1 e o nascimento



Foram analisados os dados maternos e perinatais de todas as pacientes estudadas. A taxa total de internação em UTIN foi 22% (11/50 casos), sendo 24% para o grupo com teste da PAMG-1 positivo e 20% para as pacientes com teste negativo. O número absoluto de complicações neonatais foi de 4 casos entre as pacientes com teste positivo e 5 casos nas pacientes com teste negativo, 16% e 20%, respectivamente. Afora o uso de antibióticos, não foi observada complicações maternas.

Em relação à morbidade neonatal, dos 4 pacientes do grupo P1, 3 deles apresentaram DMH e 1 teve diagnóstico de infecção. No grupo P2, 5 pacientes evoluíram com complicações, sendo 3 casos de quadro infeccioso, 1 DMH e 1 EN. Não houve registro de óbitos durante a realização do estudo.

Figura 5 – Tempo de internação materna para as pacientes conforme o resultado do teste da PAMG-1



## Discussão

A integridade das membranas ovulares requer um equilíbrio entre a síntese e a degradação de componentes da matriz extracelular, essencialmente o colágeno, e o controle da renovação celular. Um desequilíbrio nesse processo pode determinar uma fragilização e, em seguida, ocasionar a ruptura das membranas (Pasquier e Doret, 2008). Dentre os fatores de risco mais comumente associados ao rompimento prematuro das membranas amnióticas, podemos citar os maternos, como tabagismo, baixo nível sócio-econômico e deficiências nutricionais; uteroplacentários, como DPP, infecção amniótica, dilatação cervical e encurtamento do colo; fetais, como gestação múltipla e polidramnia (Caughey, Robinson *et al.*, 2008). A presença de corioamnionite pode, por si só, ser uma causa de RUPREME pré-termo (Zanardo, Vedovato *et al.*, 2009).

Embora o presente estudo não tenha buscado estabelecer os fatores de risco associados à ruptura prematura das membranas, ao se analisar a amostra obtida das pacientes com teste da PAMG-1 positivo, observou-se que 44% delas apresentaram trabalho de parto pré-termo e nascimento antes de 37 semanas completas. Esse percentual é, pelo menos, três vezes maior

que a ocorrência de prematuridade no HUSM (Spara, Mauad Filho *et al.*, 2006). Em relação às gestantes do grupo P1, verificou-se percentual idêntico ao das pacientes com PAMG-1 positivo (44%).

Período de latência é o tempo decorrido entre o rompimento das membranas e o nascimento e esse, geralmente, é inversamente proporcional à idade gestacional em que ocorreu a ruptura. Aproximadamente 95% das pacientes com idade gestacional de termo evoluem para o parto em até 24 horas após a RUPREME, enquanto entre as gestantes com 16 a 26 semanas de gravidez, 57% delas evoluem para o parto em até uma semana e 22% retardam em até quatro semanas o nascimento (Hannah e Ohlsson *et al.*, 1996 apud Medina e Hill, 2006).

Os dados obtidos com nossa amostra foram semelhantes. Dentre as 25 pacientes com teste da PAMG-1 positivo, 14 delas eram gestantes de termo e 93% delas evoluíram para parto em até 24h (13 casos). Dentre as 11 pacientes que apresentavam gestações pré-termo, com idades gestacionais entre 29 e 37 semanas incompletas, 27% delas retardaram o parto em mais de 48h (3/11 casos).

O fato de conseguir prolongar a gestação por uma semana após o diagnóstico de RUPREME está associado a melhores resultados na sobrevivência quando o parto ocorre entre 23 e 32 semanas de idade gestacional (Mercer, 2003). No presente estudo houve um caso de RUPREME com 32 semanas em que se conseguiu prolongar a gestação por 11 dias. Como resultado obteve-se um recém-nascido sem complicações e com permanência em UTIN de 2 dias.

Da amostra, 22% (11/50 casos) dos recém-nascidos foram admitidos em UTIN, sendo que houve semelhança nos números de casos para os dois grupos. Essa taxa pode estar relacionada ao método de seleção das pacientes, uma amostra de conveniência. O número absoluto de complicações neonatais também foi baixo, quatro casos entre as pacientes com teste positivo e cinco casos nas pacientes com teste negativo, 16% e 20% respectivamente. As complicações secundárias à prematuridade foram mais comuns no grupo P1 (3 casos de DMH – 75%) quando comparadas à morbidade infecciosa (1 caso – 25%). Já no grupo P2, foram três casos de infecção (60%) e dois de complicações da prematuridade (DMH e EN – 40%). Apesar de a taxa de infecção ter sido comparativamente maior no grupo P2, os dados revelaram baixa morbidade infecciosa para a amostra total, apenas 8% (4/50 casos).

Os dados obtidos em relação ao tempo de perda líquida referido pela paciente demonstram que houve diferença entre os grupos estudados. As pacientes do grupo P1 procuraram atendimento médico em tempo mais curto em relação ao grupo P2. Hipótese

plausível para esse fato pode ser a de que a ruptura das membranas e a quantidade de líquido perdido tenham sido mais evidentes no grupo P1.

O tempo decorrido entre o episódio de RUPREME e a chegada no serviço de saúde pode ser de extrema importância nas tomadas de condutas, especialmente nos casos de gestações pré-termo. E ainda, quanto mais longo for, maior será o comprometimento no resultado do teste utilizado.

Friedman e McElin observaram que muitos autores não correlacionam o tempo entre a ruptura e a aplicação do teste e quais efeitos poderiam advir deste fato (Friedman e Mcelin, 1969). Apesar de apresentar uma boa acurácia diagnóstica, o IGFBP-1 deve ser aplicado tão logo ocorra ruptura. Atraso em mais de 12h na realização do teste eleva a taxa de falso-negativo, uma vez que o IGFBP-1 é degradado por proteases vaginais (Erdemoglu e Mungan, 2004). Os resultados encontrados neste estudo sugerem que o teste da PAMG-1 possa ser realizado mesmo após 24h de ruptura sem prejuízo em seu resultado. Isso representaria um benefício em relação aos demais testes.

O tempo decorrido entre a realização do teste da PAMG-1 e o nascimento foi discordante entre os grupos, sendo maior naquelas com teste negativo. Esse dado é importante para auxiliar o médico na tomada de decisões cruciais quando o teste for positivo. Prolongar a gestação, administrar corticóides e antibióticos, providenciar vaga em UTIN são algumas medidas importantes para melhorar os resultados perinatais em casos de idade gestacional precoce.

O tempo de internação materna foi maior nas pacientes em que o resultado do teste da PAMG-1 foi negativo, uma vez que elas prosseguiram a investigação de RUPREME hospitalizadas. Esse fato não determinou morbidade materna e fetal, porém incrementou os gastos hospitalares.

O SUS (Sistema Único de Saúde) ainda enfrenta dificuldades desde a sua implantação, como a falta de leitos disponíveis. O Serviço de Obstetrícia do HUSM conta com, aproximadamente, 30 leitos de internação e uma internação prolongada limita a rotina diária de maternidade, na qual existe alta rotatividade de pacientes. Além disso, o SUS paga ao hospital um valor fixo por internação conforme o diagnóstico do paciente. Nos casos de investigação de RUPREME, o valor recebido pelo HUSM é de R\$109,30, independente da duração da estadia e dos exames realizados. No caso da paciente que permaneceu internada por 45 dias, o valor da diária recebida foi de R\$2,42.

Uma das limitações encontradas para a larga utilização do teste da PAMG-1 é o seu valor de mercado, R\$170,00. Esse é um dos fatores que restringe seu uso e incorporação no

SUS. Porém, nos casos em que houver dúvida diagnóstica, o teste permanece sendo menos oneroso quando comparado às longas hospitalizações.

Cousins et al., avaliaram prospectivamente 203 pacientes com o teste da PAMG-1 para diagnóstico de RUPREME. A sensibilidade e especificidade encontradas foram de 98,9% e 100%, respectivamente. Os valores preditivos positivo e negativo foram de 100% e 99,1%, respectivamente. Com isso, concluíram que o teste foi superior em acurácia e confiabilidade quando comparado aos demais atualmente disponíveis (Cousins, Smok *et al.*, 2005). Em concordância, Lee, Si et al., ao avaliarem 183 pacientes com sintomas de RUPREME, encontraram sensibilidade e especificidade de 99% e 88%, respectivamente, para o teste da PAMG-1. Os valores preditivos positivo e negativo foram 98% e 91%, respectivamente. Em 24 casos o teste da PAMG-1 divergiu dos testes clínicos (*pooling*, pH e cristalização), com resultado favorável para PAMG-1 em 20 casos (Lee, Park *et al.*, 2007).

Os resultados acima apresentados para o teste da PAMG-1 em pacientes em investigação de RUPREME são similares com os obtidos neste estudo. As taxas de sensibilidade e especificidade de 92% e valores preditivos positivo e negativo acima de 90% demonstram o alto poder de confiabilidade do teste. Além disso, os dois métodos foram discordantes em apenas 8% dos casos. A taxa de falso negativo que, para o exame especular é 12%, para o teste da PAMG-1 foi 8% (Ladfors, Mattson *et al.*, 1997).

Os dois casos de falso-negativos encontrados com o teste da PAMG-1 têm discussão limitada. Hipótese de erro de técnica poderia justificar esses resultados discordantes. Do ponto de vista bioquímico nada foi descrito como fator limitador do resultado do teste até o momento.

Ao utilizarem o teste da PAMG-1 em pacientes com membranas ovulares íntegras, Lee, Seung et al., encontraram 31% de positividade em nulíparas em trabalho de parto de termo. O resultado positivo também foi associado com menor intervalo de tempo entre admissão e nascimento (Lee, Lee *et al.*, 2009), semelhantemente ao deste estudo. Duas pacientes do grupo P2 apresentaram teste da PAMG-1 positivo, foram internadas e evoluíram espontaneamente para parto vaginal em menos de 24h. Esse fato poderia ser explicado pelo encontrado por aqueles autores, em que pacientes com membranas ovulares íntegras e teste da PAMG-1 positivo apresentam menor intervalo de tempo entre o exame e o nascimento.

Existem duas hipóteses plausíveis para a justificativa de pacientes com membranas íntegras apresentarem teste da PAMG-1 positivo. A primeira delas seria o processo inflamatório decorrente do trabalho de parto, com liberação de enzimas e citocinas, induzindo ao aparecimento de áreas de fragilidade ou microperfurações nas membranas, o que poderia

ocasionar perdas de pequenas quantidades de líquido amniótico. A outra hipótese é a de que o aumento da pressão intra-uterina durante as contrações resultaria em transudação de líquido amniótico através dos poros pré-existentes nas membranas fetais (Lee, Romero *et al.*, 2012).

Buscando estabelecer a utilidade clínica do teste da PAMG-1, Neil et al., estudaram 184 pacientes com história de RUPREME. Os autores observaram que o uso do teste elevou a confiabilidade de diagnóstico dos médicos de 53% para 92% nos casos de ruptura. Além disso, a utilização do teste modificou a conduta de 23 pacientes (13% dos casos). Três pacientes foram excluídas em virtude dos testes apresentarem resultado inválido (Neil e Wallace, 2010). Nesse estudo o pesquisador foi cegado para o resultado do teste da PAMG-1, portanto, o resultado do teste não influenciou a conduta desde a aplicação do exame até o momento do parto. Em relação ao *kit* utilizado para a realização do teste, não houve caso de resultado inválido e a taxa de aproveitamento foi de 100%.

## CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitem concluir que:

- O teste da PAMG-1 utilizado na investigação de pacientes com suspeita de RUPREME mostrou elevada preditividade diagnóstica com baixas taxas de resultados falsos positivo e negativo;
- o teste da PAMG-1 pode reduzir o tempo de internação hospitalar materna, especialmente se seu resultado for positivo, por maior segurança na tomada de decisão nos casos de RUPREME;
- por reduzir o tempo ou evitar a internação da paciente o teste da PAMG-1 ajuda a minimizar os gastos hospitalares;
- apesar de ser um produto de alto custo para um sistema de saúde público, recomenda-se sua padronização pelo SUS, pois a relação custo-benefício nos casos de suspeita de RUPREME seria altamente positiva na atenção à essas pacientes.

## REFERÊNCIAS

- Abdelazim, I. A. e H. H. Makhoul. Placental alpha microglobulin-1 (AmniSure((R)) test) for detection of premature rupture of fetal membranes. Arch Gynecol Obstet, v.285, n.4, Apr, p.985-9. 2010.
- Alexander, J. M. e S. M. Cox. Clinical course of premature rupture of the membranes. Semin Perinatol, v.20, n.5, Oct, p.369-74. 1996.
- Araujo, M. C. K., R. Feferbaum, *et al.* Infecção Neonatal, Rotura Prematura de Membranas Amnióticas e Corioamnionite. PEDIATRIA, v.16, n.3, p.94-101. 1994.
- Boltovskaya, M. N., E. I. Zaraiskii, *et al.* Histochemical and clinical-diagnostic study of placental alpha1-microglobulin using monoclonal antibodies. Bull Exp Biol Med, v.112, p.397-400. 1991.
- Caughey, A. B., J. N. Robinson, *et al.* Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. Rev Obstet Gynecol, v.1, n.1, Winter, p.11-22. 2008.
- Cousins, L. M., D. P. Smok, *et al.* AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. Am J Perinatol, v.22, n.6, Aug, p.317-20. 2005.
- Di Renzo, G. C., L. C. Roura, *et al.* Guidelines for the management of spontaneous preterm labor: identification of spontaneous preterm labor, diagnosis of preterm premature rupture of membranes, and preventive tools for preterm birth. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, v.24, n.5, May, p.659-67. 2011.
- Erdemoglu, E. e T. Mungan. Significance of detecting insulin-like growth factor binding protein-1 in cervicovaginal secretions: comparison with nitrazine test and amniotic fluid volume assessment. Acta Obstet Gynecol Scand, v.83, n.7, Jul, p.622-6. 2004.
- Friedman, M. L. e T. W. Mcelin. Diagnosis of ruptured fetal membranes. Am J Obstet Gynecol, v.104, n.4, Jun, p.544-50. 1969.
- Krupa, F. G., J. G. Cecatti, *et al.* Rotura prematura de membranas em gestações a termo: revisão sobre condutas. Rev Cienc Med, v.14, n.3, p.287-94. 2005.
- Ladfors, L., L. A. Mattson, *et al.* Is a speculum examination sufficient for excluding the diagnosis of ruptured fetal membranes? Acta Obstet Gynecol Scand, v.76, n.8, Sep, p.739-42. 1997.
- Lee, S. E., J. S. Park, *et al.* Measurement of Placental Alpha-Microglobulin-1 in Cervicovaginal Discharge to Diagnose Rupture of Membranes. Obstet Gynecol, v.109, n.3, p.634-40. 2007.
- Lee, S. M., J. Lee, *et al.* The clinical significance of a positive Amnisure test in women with term labor with intact membranes. J Matern Fetal Neonatal Med, v.22, n.4, Apr, p.305-10. 2009.

Lee, S. M., R. Romero, *et al.* The clinical significance of a positive Amnisure test in women with preterm labor and intact membranes. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, v.25, n.9, p.1690-98. 2012.

Medina, T. M. e D. A. Hill. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management. American Family Physician, v.73, n.4, Feb, p.659-64. 2006.

Mercer, B. M. Preterm premature rupture of the membranes. Obstet Gynecol, v.101, n.1, Jan, p.178-93. 2003.

Neil, P. R. e E. M. Wallace. Is Amnisure(R) useful in the management of women with prelabour rupture of the membranes? Aust N Z J Obstet Gynaecol, v.50, n.6, Dec, p.534-8. 2010.

Park, J. S., S. E. Lee, *et al.* Non-invasive Testing for Rupture of the Fetal Membranes. Ultrasound Obstet Gynecol, p.13-16. 2007.

Pasquier, J. C., Doret, M. Fetal membranes: embryological development, structure and the physiopathology of the preterm premature rupture of membranes. [Article in French]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), v.37, n.6, Oct, p.579-88. 2008.

Spara, P., Mauad Filho, F, *et al.* Avaliação cervical em gestantes com rotura prematura pré-termo de membranas. Femina, v.34, p.123-7. 2006.

Tagore, S. e K. Kwek. Comparative analysis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), placental alpha-microglobulin-1 (PAMG-1) and nitrazine test to diagnose premature rupture of membranes in pregnancy. J Perinat Med, v.38, n.6, Nov, p.609-12. 2010.

Zanardo, V., S. Vedovato, *et al.* Preterm premature rupture of membranes, chorioamnion inflammatory scores and neonatal respiratory outcome. BJOG, v.117, n.1, Jan, p.94-8. 2009.

## Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar, como voluntária, de uma pesquisa. Você precisa decidir se deseja participar ou não. Mas não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se encontra a seguir e tire todas as dúvidas com o pesquisador responsável. Após ser esclarecida sobre as informações a seguir, no caso de aceitar participar do estudo, assine este documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador. Em caso de recusa, você não será penalizada de forma alguma.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título: **“O uso da alfa microglobulina-1 placentária no diagnóstico de ruptura prematura de membranas e sua associação com resultados obstétricos e perinatais”.**

Instituição / Departamento: Hospital Universitário de Santa Maria / Departamento de Obstetrícia

Pesquisador Responsável : Panait Kosmos Nicolaou

Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): (55) 8122-1616

Endereço: Rua Nove, 301. Bairro Camobi, Santa Maria/RS. CEP 97.105-410

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria

End: Av. Roraima, 1000. Prédio da Reitoria, 2º andar. Cidade Universitária, Camobi, Santa Maria/RS. CEP 97.105-900. E-mail: comiteeticapesquisa@mail.ufsm.br

- ◆ **Este estudo vai testar um novo método para fazer diagnóstico de bolsa rota. Será realizado em gestantes atendidas no Centro Obstétrico, apenas na primeira consulta de cada uma delas. As pacientes serão submetidas à consulta de rotina, incluindo exame especular da vagina e coleta de material vaginal com um cotonete para estudo. O prazo máximo para o estudo é o nascimento do bebê.**
- ◆ **O possível prejuízo é a sensação de desconforto que você poderá ter durante o exame. Os testes utilizados não trazem risco à saúde do feto e da mãe. Não haverá qualquer forma de indenização ou ressarcimento de despesas.**
- ◆ **As pacientes que aceitarem participar do estudo contribuirão para o desenvolvimento da ciência, em busca de melhores resultados para as gestantes e seus filhos. O resultado final será a redação de um artigo científico para publicação em revistas e periódicos da especialidade.**
- ◆ **Em qualquer momento você poderá conversar ou tirar dúvidas com o pesquisador responsável. Você tem pleno direito de deixar o estudo a qualquer momento, sem que isso lhe traga algum prejuízo durante seu tratamento e acompanhamento.**
- ◆ **A confidencialidade das informações será mantida com o maior rigorismo.**
- ◆ **Os dados serão utilizados exclusivamente neste trabalho e serão armazenados em computador do próprio pesquisador, por um período de 5 (cinco) anos. Após este prazo, serão destruídos.**

Nome e Assinatura do pesquisador \_\_\_\_\_

### CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “O uso da alfa microglobulina-1 placentária no diagnóstico de ruptura prematura de membranas e sua associação com resultados obstétricos e perinatais”, como sujeito. Fui devidamente informada e esclarecida pelo pesquisador *Panait Kosmos Nicolaou* sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Ficou claro também que minha participação é isenta de qualquer custo. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência ou tratamento.

Santa Maria, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura do sujeito ou responsável: \_\_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do sujeito da pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Santa Maria, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

#### REVOGAÇÃO

Revogo o consentimento prestado na data de \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ e não desejo prosseguir no tratamento, que dou com esta por finalizado.

Santa Maria, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Pesquisador Responsável

\_\_\_\_\_  
Sujeito da pesquisa ou Representante

**Apêndice B – Ficha de avaliação médica****FICHA DE AVALIAÇÃO MÉDICA**

Protocolo n°: \_\_\_\_\_

**Anamnese**

Paciente: \_\_\_\_\_ SAME: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

G \_\_\_\_\_ Pv \_\_\_\_\_ Pc \_\_\_\_\_ Termo \_\_\_\_\_ Pré-termo \_\_\_\_\_ Ab \_\_\_\_\_ IG Ecográfica \_\_\_\_\_

## Queixa:

- Perda de líquido? ( ) Sim ( ) Não Tempo de perda líquida (horas): \_\_\_\_\_  
 - Contrações? ( ) Sim ( ) Não

## - História Pgressa:

Trabalho de parto pré-termo na gestação atual? ( ) Sim ( ) Não  
 Parto Pré-termo? ( ) Sim ( ) Não  
 Em quantas gestações? \_\_\_\_\_ Se sim, infecção? Em quantas: \_\_\_\_\_  
 História de Rupreme Pré-termo? ( ) Sim ( ) Não Em quantas gestações? \_\_\_\_\_

- Outras considerações \_\_\_\_\_

**Exame Físico e Complementar**

## Exame especular:

( ) LA coletado ( ) LA fluído de OCE ( ) Ausência de LA

( ) Secreções. Aspecto: \_\_\_\_\_

Trabalho de Parto: ( ) Sim ( ) Não

Testes: 1. ( ) LA coletado ( ) Positivo ( ) Negativo

2. ( ) PAMG-1 ( ) Positivo ( ) Negativo ( ) Inválido

Internação: ( ) Sim ( ) Não Tempo de Internação (h): \_\_\_\_\_

Antibioticoterapia: ( ) Sim ( ) Não Tempo de Antibioticoterapia (h): \_\_\_\_\_

Qual droga: \_\_\_\_\_

**DADOS DO PARTO E RECÉM-NASCIDO**

Data do parto: \_\_\_\_\_ Tipo de Parto: ( ) Vaginal ( ) Cesáreo

Idade gestacional: \_\_\_\_\_ sem Capurro Somático: \_\_\_\_\_ sem

Apgar: 1º min \_\_\_\_\_ 5º min \_\_\_\_\_ 10º min \_\_\_\_\_ Peso do recém-nascido: \_\_\_\_\_ g

UTI Neonatal: ( ) Sim ( ) Não Se sim, dias de internação: \_\_\_\_\_

## Complicações Neonatais:

( ) Membrana Hialina ( ) Hemorragia Intracraniana ( ) Enterocolite Necrosante

( ) Ventilação Mecânica Infecção Neonatal: ( ) Sim ( ) Não

( ) Antibioticoterapia? Qual? \_\_\_\_\_ ( ) Óbito

**Diagnóstico através dos exames (aponte UMA das opções):**

Diagnóstico	Diagnóstico Circule UMA	Definição
RUPREME	Sim Não	Bolsa rota não seguida por TP em 24 h após a perda líquida, após as 37 sem.
RUPREME PRÉ-TERMO	Sim Não	Rupreme Pré-Termo é rupreme antes de 37 sem de gestação.
BOLSA ROTA	Sim Não	Ruptura de membranas seguida por TP em até 24h.
BOLSA ROTA ASSINTOMÁTICA	Sim Não	Bolsa rota sem sintomas, como perda líquida.

## Apêndice C – Comprovante de submissão na Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia



[PÁGINA INICIAL](#)   [SOBRE](#)   [PÁGINA DO USUÁRIO](#)   [FEBRASGO](#)

[Página inicial](#) > [Usuário](#) > [Autor](#) > **Submissões Ativas**

### Submissões Ativas

ATIVO		ARQUIVO				
ID	MM-DD ENVIADO	SEÇÃO	AUTORES	TÍTULO	SITUAÇÃO	
RBGO-1508	07-10	RT	Nicolaou, Morais, Gallarreta, Neme,...	O USO DA ALFA MICROGLOBULINA-1 PLACENTÁRIA (PAMG-1) NA...	EM AVALIAÇÃO: REVISÕES REQUERIDAS	
1 a 1 de 1 itens						
<b>Iniciar nova submissão</b> <a href="#">CLIQUE AQUI</a> para iniciar os cinco passos do processo de submissão.						

Av. Bandeirantes, 3900  
 Departamento de Ginecologia e Obstetrícia  
 14049-900 - Ribeirão Preto-SP

Retirado de: <http://submission.scielo.br/index.php/rbgo/author> em 01/08/2013, 14h.

## Apêndice D – Artigo científico

O uso da alfa microglobulina-1 placentária (PAMG-1) no diagnóstico de ruptura prematura de membranas e sua associação com resultados obstétricos e perinatais.

The use of placental alpha microglobulin-1 (PAMG-1) in diagnosis of premature rupture of membranes its association with obstetric and perinatal outcomes.

### RESUMO

**OBJETIVO:** estudar a preditividade diagnóstica do teste da PAMG-1 para pacientes com suspeita de ruptura prematura das membranas amnióticas (RUPREME). **MÉTODOS:** foram selecionadas consecutivamente 50 pacientes com suspeita de RUPREME e alocadas em dois grupos (25 com *pooling* positivo e 25 com *pooling* negativo). Todas as pacientes foram submetidas ao teste da PAMG-1. Foram avaliadas a preditividade do teste da PAMG-1, tempo entre a realização do exame e nascimento e tempo de internação materna. Para a análise estatística foi utilizado o teste “*t*” de Student, Mann-Whitney e qui-quadrado. O nível de significância admitido foi  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo para o teste da PAMG-1 foram de 92%. As taxas de falsos positivo e negativo foram de 8%. A acurácia do teste foi 92%. O tempo entre a realização do exame e nascimento foi 29h nas pacientes com teste da PAMG-1 positivo e 287,8h nas pacientes com teste negativo ( $p=0,0001$ ) e o tempo de internação materna foi 29h e 130h, respectivamente ( $p=0,001$ ). **CONCLUSÕES:** o teste da PAMG-1 apresenta elevada preditividade diagnóstica nos casos de suspeita de ruptura prematura de membranas, com baixas taxas de falsos positivo e negativo. Além disso, pode reduzir o tempo ou evitar a hospitalização materna e dessa forma, reduzir gastos com saúde pública.

Palavras-chave: ruptura prematura de membranas, membranas amnióticas, proteína PAMG-1

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** to study the predictivity of PAMG-1 test for patients with suspected premature rupture of membranes (PROM). **METHODS:** fifty patients with suspected PROM were selected and allocated them into two groups (25 with positive pooling and 25 with negative pooling). All patients were subjected to the PAMG-1 test. The predictivity of PAMG-1 test was evaluated for the time between the exam and birth and days in hospital after delivery. For statistical analysis we used the “t” test, Mann-Whitney and chi-square. A level of 5% of significance was accepted ( $p < 0,05$ ). **RESULTS:** the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for the PAMG-1 test were 92%. The rates of false positive and false negative were 8%. The accuracy of the test was found to be 92%. The time between the exam and birth was 29h for patients with positive test and 287,8h for patients with negative test ( $p = 0,0001$ ) and maternal hospitalization was 29h and 130h, respectively ( $p = 0,001$ ). **CONCLUSIONS:** the PAMG-1 test has high predictivity in suspected cases of premature rupture of amniotic membranes, with low rates of false positive and false negative test results. Moreover, it can reduce the time of maternal hospital stay or avoid maternal hospitalization and thereby reduce public health expenditures.

**Keywords:** premature rupture of membranes, amniotic membranes, PAMG-1 protein.

## Introdução

A ruptura prematura de membranas (RUPREME) é definida como o rompimento espontâneo das membranas amnióticas antes de iniciado o trabalho de parto. Ela pode ocorrer em qualquer fase da gestação. Porém, quando se der antes de trinta e sete semanas completas, é conhecida como RUPREME pré-termo (Lee, Park *et al.*, 2007). Sua incidência é variável

conforme a literatura, podendo ocorrer em 4 até 18% de todas as gestações e de 15 a 40% nos partos pré-termo (Araujo, Feferbaum *et al.*, 1994).

A capacidade de diagnosticar corretamente os casos de RUPREME no primeiro momento é fundamental para otimizar os resultados perinatais e minimizar complicações (Neil e Wallace, 2010; Di Renzo, Roura *et al.*, 2011). Um resultado falso-negativo pode elevar a morbidade infecciosa da mãe e do feto. Por outro lado, um diagnóstico falso-positivo, pode acarretar intervenções inapropriadas, como hospitalização, administração de corticóides e antibióticos ou, até mesmo, indução do parto (Abdelazim e Makhlof, 2011).

O diagnóstico acurado de RUPREME permanece sendo um problema freqüente na prática obstétrica. A suspeita é levantada com base numa história relatada pela paciente (Abdelazim e Makhlof, 2011). O diagnóstico clínico pode ser fácil quando ocorre grande perda líquida via vaginal ou quando um fluido claro é visualizado atravessando o canal cervical. No entanto, em até 47% dos casos, médicos apresentam dúvidas em relação ao diagnóstico de RUPREME baseado apenas na história clínica e no exame especular estéril (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011).

A alfa microglobulina-1 placentária (PAMG-1) é uma glicoproteína de 34 kD, presente no líquido amniótico na concentração de 2.000-25.000ng/mL (Di Renzo, Roura *et al.*, 2011). No sangue materno esse valor é em torno de 5-25ng/mL e nas secreções vaginais 0.05-0.2ng/mL. Esta larga diferença, possivelmente, 1.000-10.000 vezes maior entre os valores do líquido amniótico e das secreções vaginais tornou a PAMG-1 um método atrativo para diagnosticar o rompimento das membranas ovulares. Lee *et al.*, ao avaliarem 184 pacientes com RUPREME, encontraram sensibilidade de 98,7% e especificidade de 87,5% para o teste da PAMG-1 (Lee, Park *et al.*, 2007).

Apesar da importância do diagnóstico acurado e precoce de RUPREME e um avanço teórico com o uso da PAMG-1 como marcador, existem poucos estudos prospectivos de sua

*performance* e desfechos clínicos. Isso demonstra a necessidade de novos estudos para testar essa técnica que parece ser promissora (Lee, Park *et al.*, 2007). O objetivo principal deste trabalho foi estudar a preditividade diagnóstica do teste da PAMG-1 para pacientes com suspeita de ruptura prematura das membranas amnióticas.

## **Metodologia**

Entre maio de 2012 e maio de 2013 foi realizado um estudo transversal, prospectivo e analítico com uma amostra de conveniência constituída por pacientes do Centro Obstétrico do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM). Todas participantes receberam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para fazerem parte da pesquisa, a mesma foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e conduzida em conformidade com a Declaração de Helsinque, revisada em 2008.

Os critérios de inclusão foram: mulheres grávidas, com idade entre 18 e 50 anos, gestação única entre 24 e 42 semanas, que apresentassem sinais e/ou sintomas de RUPREME ou RUPREME pré-termo. Foram excluídas pacientes com sangramento vaginal significativo, placenta prévia, exame obstétrico com toque vaginal realizado imediatamente antes do início do protocolo da pesquisa e pacientes em trabalho de parto ativo.

Para o cálculo amostral estimou-se uma proporção de expostos no grupo de estudo de 50% e 95% no grupo de controle, um poder de teste de 90% e nível de significância de 1%. Com uma previsão de perdas de 10%, a amostra total estipulada foi de 50 pacientes.

Primeiramente, eram realizados anamnese detalhada e exame especular estéril. Em seguida, todas pacientes foram submetidas ao teste da PAMG-1. O examinador foi o mesmo durante todo o estudo e encontrava-se cegado para os resultados dos testes da PAMG-1. Somente após a obtenção de toda amostra os resultados dos testes foram conhecidos.

As pacientes foram divididas em dois grupos. Quando o examinador detectava acúmulo de líquido amniótico em fundo de saco vaginal ou evidência de líquido fluindo através do orifício cervical interno, o diagnóstico de RUPREME era confirmado e a paciente incluída no grupo P1. As pacientes que não apresentavam perda de líquido amniótico durante o exame tiveram o quadro de RUPREME afastado e foram alocadas no grupo P2.

O exame especular foi realizado com material estéril, sem o uso de soluções lubrificantes ou anti-sépticas, introduzindo-se o speculo na cavidade vaginal para a inspeção das paredes, fundo de saco de Douglas e orifício cervical externo durante 1 min. Em seguida, realizava-se o teste da PAMG-1 de acordo com as orientações do fabricante, contidas na embalagem do *kit*.

Enquanto no P1 as pacientes foram manejadas conforme as condutas do Serviço de Obstetrícia do HUSM para casos de RUPREME, no P2, as gestantes foram hospitalizadas para serem submetidas a outros procedimentos diagnósticos para esclarecimento do quadro.

O desfecho foi analisado através de consulta ao prontuário médico de cada paciente e os dados foram anotados nas fichas de avaliação clínica. As principais variáveis estudadas foram: tempo de RUPREME referido pela paciente, resultado do exame especular, resultado do teste da PAMG-1, tempo decorrido entre a realização do teste e o nascimento, tempo de internação materna.

Para a análise estatística, os dados foram armazenados no *software* SPSS15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Os resultados foram analisados sob metodologia descritiva e quantitativa. Os resultados para variáveis contínuas foram demonstrados sob a forma de médias e desvio padrão. A análise estatística quando pertinente foi realizada através do teste “*t*” de Student e de Mann-Whitney. Para as variáveis categóricas foi utilizada a estatística não-paramétrica com teste do qui-quadrado. Considerou-se como significativo um  $\alpha=5\%$  ( $p<0,05$ ).

## Resultados

Na tabela 1 encontram-se os dados demográficos mais relevantes das gestantes estudadas e seus conceitos. Os dados referentes aos grupos P1 e P2 não apresentaram diferenças quando comparados entre si ( $p=NS$ ).

Dentre as 25 pacientes que apresentaram resultado do teste da PAMG-1 positivo, 14 delas encontravam-se com idade gestacional de 37 semanas ou mais e dessas, 13 evoluíram para o parto em até 24 h (93%). Das 11 pacientes com resultado positivo e que apresentavam gestações pré-termo, 27% delas retardou o parto em mais de 48h (3/11 casos).

Na tabela 2 estão apresentados os dados do exame especular estéril e do teste da PAMG-1 para diagnóstico de RUPREME, nos grupos P1 e P2. Testes de probabilidades diagnósticas foram realizados a partir dos dados da tabela para calcular a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, taxas de falsos positivo e negativo e acurácia. Quando testada a associação entre o resultado do exame especular estéril e o resultado da PAMG-1 com o teste do qui-quadrado, verificou-se uma associação altamente significativa entre ambos ( $\chi^2 = 35,28; p<0,0001$ ).

A sensibilidade e especificidade para o teste da PAMG-1 foram de 92%. Da mesma forma, os valores preditivos positivo e negativo foram 92%. A taxa de exames falso-positivos foi de 8%, assim como a taxa de falso-negativos, 8%. A acurácia do teste da PAMG-1 para diagnóstico de RUPREME foi de 92%.

Na tabela 3 estão expressos os tempos de ruptura prematura de membranas referidos para as pacientes dos grupos P1 e P2. A análise dos resultados realizada pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney demonstrou haver uma diferença estatística altamente significativa entre os dois grupos estudados ( $p<0,004$ ). A análise individualizada dos casos revela que no grupo P1 uma paciente referiu tempo de perda líquida superior a 24 horas e o resultado do teste da PAMG-1 foi positivo.

Na tabela 4 estão apresentados os dados referentes ao tempo de intervalo entre a realização do teste e o nascimento (TEN), idade gestacional ao nascimento, Capurro, peso fetal e tempo de internação materna (TIM) conforme o resultado do teste da PAMG-1.

Observa-se que o tempo decorrido desde o momento da realização do teste até o nascimento foi significativamente maior nas pacientes com teste da PAMG-1 negativo. Enquanto a média e o maior TEN no grupo com teste positivo foram de 29h e 332h, respectivamente, no grupo com teste negativo foram de 287,8h e 1080h, respectivamente ( $p=0,0001$ ). O tempo de internação materna médio para o grupo com teste da PAMG-1 positivo foi de 29h e 130h para o grupo com teste negativo. A diferença entre os grupos foi significativa ( $p=0,001$ ). O maior TIM no grupo com teste positivo foi de 48h, enquanto no grupo com teste da PAMG-1 negativo foi de 1080h. As figuras 1 e 2 correspondem à tabela 4.

Foram analisados os dados maternos e perinatais de todas as pacientes estudadas. A taxa total de internação em UTIN foi 22% (11/50 casos), sendo 24% para o grupo com teste da PAMG-1 positivo e 20% para as pacientes com teste negativo. O número absoluto de complicações neonatais foi de 4 casos entre as pacientes com teste positivo e 5 casos nas pacientes com teste negativo, 16% e 20%, respectivamente. Afora o uso de antibióticos, não foi observado complicações maternas. Não houve registro de óbitos durante a realização do estudo.

## **Discussão**

Período de latência é o tempo decorrido entre o rompimento das membranas e o nascimento e este, geralmente, é inversamente proporcional à idade gestacional em que ocorreu a ruptura. Aproximadamente 95% das pacientes com idade gestacional de termo evoluem para o parto em até 24 horas após a RUPREME, enquanto entre as gestantes com 16 a 26 semanas de gravidez, 57% delas evoluem para o parto em até uma semana e 22%

retardam em até quatro semanas o nascimento (Hannah e Ohlsson *et al.*, 1996 apud Medina e Hill, 2006). No grupo das pacientes com teste da PAMG-1 positivo, 93% das gestantes de termo evoluiu para parto em até 24h (13 casos). Das 11 pacientes com gestações pré-termo, 27% delas retardou o parto em mais de 48h (3/11 casos). Portanto, a associação entre prematuridade e teste da PAMG-1 positivo esteve presente em 44% das pacientes. Esse percentual é, pelo menos, três vezes maior que a ocorrência de prematuridade no HUSM (Spara, Mauad Filho *et al.*, 2006).

Mercer *et al.*, mostraram que o fato de conseguir prolongar a gestação por uma semana após o diagnóstico de RUPREME esteve associado a melhores resultados na sobrevivência quando o parto ocorreu entre 23 e 32 semanas de idade gestacional (Mercer, 2003). No presente estudo houve um caso de RUPREME com 32 semanas em que se conseguiu prolongar a gestação por 11 dias. Como resultado obteve-se um recém-nascido sem complicações e com permanência em UTIN de 2 dias.

A taxa de admissão em UTIN foi semelhante nos dois grupos. Esse fato pode estar relacionada ao método de seleção das pacientes, uma amostra de conveniência. O número absoluto de complicações neonatais foi baixo. As complicações secundárias à prematuridade (75%) foram mais comuns no grupo das pacientes com RUPREME quando comparadas à morbidade infecciosa (25%). Apesar de a taxa de infecção ter sido comparativamente maior no grupo P2, os dados revelaram baixa morbidade infecciosa para a amostra total.

As pacientes com RUPREME procuraram atendimento médico em tempo mais breve. O tempo decorrido entre o momento da ruptura e a chegada no serviço de saúde pode ser de extrema importância nas tomadas de condutas, especialmente nos casos de gestações pré-termo. Além disso, quanto maior ele for, maior será o comprometimento no resultado do teste utilizado. Friedman e McElin observaram que muitos autores não correlacionam o tempo entre a ruptura e a aplicação do teste (Friedman e McElin, 1969). Apesar de apresentar boa

acurácia diagnóstica, o teste do IGFBP-1 deve ser aplicado tão logo ocorra a ruptura. Atraso em mais de 12h para realização do teste eleva a taxa de falso-negativo, uma vez que o IGFBP-1 é degradado por proteases vaginais (Erdemoglu e Mungan, 2004). Os resultados encontrados neste estudo sugerem que o teste da PAMG-1 pode ser realizado mesmo após 24h da ruptura sem prejuízo no seu resultado, o que constituiria um benefício em relação aos demais testes.

O tempo decorrido entre a realização do teste da PAMG-1 e o nascimento foi maior nas pacientes com resultado do teste negativo. Esse dado é importante para auxiliar o médico na tomada de decisões cruciais quando o teste for positivo. Prolongar a gestação, administrar corticóides e antibióticos, providenciar vaga em UTIN são algumas medidas importantes para melhorar os resultados perinatais em casos de idade gestacional precoce.

O tempo de internação materna foi maior nas pacientes em que o resultado do teste da PAMG-1 foi negativo, uma vez que essas pacientes prosseguiram a investigação de RUPREME hospitalizadas. Esse fato não determinou morbidade materna e fetal, mas incrementou os gastos hospitalares.

O Sistema Único de Saúde (SUS) ainda enfrenta muitos problemas desde a sua implantação. Um deles é a falta de leitos disponíveis. Além disso, o SUS repassa ao hospital o valor de R\$109,30 por paciente que interna por suspeita de RUPREME, independente do tempo de estadia e exames realizados.

Uma das limitações encontradas para o teste da PAMG-1 ser padronizado no SUS é o seu alto valor de mercado. Porém, nos casos em que houver dúvida diagnóstica, o teste permanece sendo menos oneroso quando comparado às longas hospitalizações. Some-se, ainda, os transtornos gerados nas famílias, tanto financeiros como psicológicos.

Cousins et al., avaliaram prospectivamente 203 pacientes com o teste da PAMG-1 para diagnóstico de RUPREME. A sensibilidade e especificidade encontradas foram de 98,9% e

100%, respectivamente. Os valores preditivos positivo e negativo foram de 100% e 99,1%, respectivamente. Com isso, concluíram que esse teste foi superior em acurácia e confiabilidade quando comparado aos demais (Cousins, Smok *et al.*, 2005). Em concordância, Lee, Si *et al.*, ao avaliarem 183 pacientes com sintomas de RUPREME, encontraram sensibilidade e especificidade de 99% e 88%, respectivamente, para o teste da PAMG-1. Os valores preditivos positivo e negativo foram 98% e 91%, respectivamente. Em 24 casos o teste da PAMG-1 divergiu dos testes clínicos (*pooling*, pH e cristalização), com resultado favorável para PAMG-1 em 20 casos (Lee, Park *et al.*, 2007).

Os resultados acima apresentados (Cousins, Smok *et al.*, 2005; Lee, Park *et al.*, 2007) para o teste da PAMG-1 em pacientes com RUPREME são similares aos obtidos com nesse estudo. As taxas de sensibilidade e especificidade de 92% e valores preditivos positivo e negativo acima de 90% demonstram o alto poder de confiabilidade do teste. Além disso, os dois métodos foram discordantes em apenas 8% dos casos. A taxa de falso negativo que, para o exame especular é 12% (Ladfors, Mattson *et al.*, 1997), para o teste da PAMG-1 foi 8%.

Os dois casos de falso-negativos encontrados com o teste da PAMG-1 têm discussão limitada por vários fatores. Do ponto de vista bioquímico nada foi descrito como fator limitador do resultado do teste até o momento.

Ao utilizarem o teste da PAMG-1 em pacientes com membranas ovulares íntegras, Lee, Seung *et al.*, encontraram 31% de positividade em nulíparas em trabalho de parto de termo. O resultado positivo também foi associado ao menor intervalo de tempo entre admissão e nascimento (Lee, Lee *et al.*, 2009), semelhantemente ao deste estudo. Duas pacientes do grupo P2 apresentaram teste da PAMG-1 positivo, foram internadas e, nos dois casos, evoluíram espontaneamente para o parto vaginal em menos de 24h. Esse fato poderia ser justificado pelo encontrado por aqueles autores, em que pacientes com membranas

íntegras e teste da PAMG-1 positivo apresentam curto intervalo de tempo entre o exame e o nascimento.

Existem duas hipóteses plausíveis para a justificativa de pacientes com membranas íntegras apresentarem teste da PAMG-1 positivo. A primeira delas seria o processo inflamatório decorrente do trabalho de parto induzindo ao aparecimento de microperfurações nas membranas. A segunda é a de que o aumento da pressão intra-uterina durante as contrações resultaria em transudação de líquido amniótico através dos poros pré-existentes nas membranas fetais (Lee, Romero *et al.*, 2012).

Buscando estabelecer a utilidade clínica do teste da PAMG-1, Neil et al., estudaram 184 pacientes com história de RUPREME. Os autores observaram que o uso do teste elevou a confiabilidade de diagnóstico dos médicos de 53% para 92% nos casos de ruptura. Além disso, a utilização do teste modificou a conduta de 23 pacientes (13% dos casos). Três pacientes foram excluídas em virtude dos testes apresentarem resultado inválido (Neil e Wallace, 2010). Nesse estudo o pesquisador foi cegado para o resultado do teste da PAMG-1, portanto, o resultado do teste não influenciou na conduta adotada. Em relação ao *kit* utilizado para o teste, não houve caso de resultado inválido e a taxa de aproveitamento foi de 100%.

Os resultados do presente estudo permitem concluir que:

- O teste da PAMG-1 utilizado na investigação de pacientes com suspeita de RUPREME mostrou elevada preditividade diagnóstica com baixas taxas de resultados falsos positivo e negativo;
- o teste da PAMG-1 pode reduzir o tempo de internação hospitalar materna, especialmente se seu resultado for positivo, por maior segurança na tomada de decisão;
- por reduzir o tempo ou evitar a internação da paciente o teste da PAMG-1 ajuda a minimizar os gastos hospitalares;

- apesar de ser um produto de alto custo para um sistema de saúde público, recomenda-se sua padronização pelo SUS, pois a relação custo-benefício nos casos de suspeita de RUPREME seria altamente positiva na atenção à essas pacientes.

## Referências bibliográficas

- Abdelazim, I. A. e H. H. Makhlof. Placental alpha microglobulin-1 (AmniSure((R)) test) for detection of premature rupture of fetal membranes. Arch Gynecol Obstet, v.285, n.4, Apr, p.985-9. 2010.
- Araujo, M. C. K., R. Feferbaum, *et al.* Infecção Neonatal, Rotura Prematura de Membranas Amnióticas e Corioamnionite. PEDIATRIA, v.16, n.3, p.94-101. 1994.
- Caughey, A. B., J. N. Robinson, *et al.* Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. Rev Obstet Gynecol, v.1, n.1, Winter, p.11-22. 2008.
- Cousins, L. M., D. P. Smok, *et al.* AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. Am J Perinatol, v.22, n.6, Aug, p.317-20. 2005.
- Di Renzo, G. C., L. C. Roura, *et al.* Guidelines for the management of spontaneous preterm labor: identification of spontaneous preterm labor, diagnosis of preterm premature rupture of membranes, and preventive tools for preterm birth. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, v.24, n.5, May, p.659-67. 2011.
- Erdemoglu, E. e T. Mungan. Significance of detecting insulin-like growth factor binding protein-1 in cervicovaginal secretions: comparison with nitrazine test and amniotic fluid volume assessment. Acta Obstet Gynecol Scand, v.83, n.7, Jul, p.622-6. 2004.
- Friedman, M. L. e T. W. Mcelin. Diagnosis of ruptured fetal membranes. Am J Obstet Gynecol, v.104, n.4, Jun, p.544-50. 1969.
- Ladfors, L., L. A. Mattson, *et al.* Is a speculum examination sufficient for excluding the diagnosis of ruptured fetal membranes? Acta Obstet Gynecol Scand, v.76, n.8, Sep, p.739-42. 1997.
- Lee, S. E., J. S. Park, *et al.* Measurement of Placental Alpha-Microglobulin-1 in Cervicovaginal Discharge to Diagnose Rupture of Membranes. Obstet Gynecol, v.109, n.3, p.634-40. 2007.
- Lee, S. M., J. Lee, *et al.* The clinical significance of a positive Amnisure test in women with term labor with intact membranes. J Matern Fetal Neonatal Med, v.22, n.4, Apr, p.305-10. 2009.
- Lee, S. M., R. Romero, *et al.* The clinical significance of a positive Amnisure test in women with preterm labor and intact membranes. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, v.25, n.9, p.1690-98. 2012.
- Medina, T. M. e D. A. Hill. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management. American Family Physician, v.73, n.4, Feb, p.659-64. 2006.
- Neil, P. R. e E. M. Wallace. Is Amnisure(R) useful in the management of women with prelabour rupture of the membranes? Aust N Z J Obstet Gynaecol, v.50, n.6, Dec, p.534-8. 2010.

Spara, P., Mauad Filho, F, *et al.* Avaliação cervical em gestantes com rotura prematura pré-termo de membranas. Femina, v.34, p.123-7. 2006.

## Tabelas

Tabela 1 – Dados demográficos das gestantes e seus conceitos, relativos ao nascimento dos grupos P1 e P2

Variável	Grupo P1				Grupo P2				p
	n	$\bar{X}$	$\sigma$	(%)	n	$\bar{X}$	$\sigma$	(%)	
Idade materna (a)	25	26,6	8,1		25	24,8	6,9		NS
Paridade (g)	25	2,4	1,8		25	2,4	1,9		NS
IG ao exame (sem)	25	36,6	3,5		25	35,5	3,7		NS
Via de parto									
- Vaginal	13			(52,0)	10			(40%)	NS
- Cesáreo	12			(48,0)	15			(60%)	NS
IG no parto (sem)	25	36,8	3,4		25	37,2	2,7		NS
Capurro (sem)	25	37,1	3,1		25	37,6	2,6		NS
Peso fetal (g)	25	2826,6	684,0		25	2843,4	592,9		NS
Apgar									
- 1º min		8,4	1,0			8,5	1,0		NS
- 5º min		9,6	0,6			9,7	0,5		NS

n: número de casos;  $\bar{X}$  : média;  $\sigma$ : desvio padrão; (%): porcentagem; p: nível de significância; (a): anos; (g): gramas; (s); (sem): semanas; NS: não-significante

Tabela 2 – Resultados do exame especular estéril e teste da PAMG-1 para a amostra estudada

	Pooling (+)	Pooling (-)	Total
	n	n	
Teste (+)	23	2	25
Teste (-)	2	23	25
Total	25	25	50

Sensibilidade (S) = 92,0%; Especificidade (E) = 92,0%; Valor Preditivo Positivo (VPP) = 92,0%; Valor Preditivo Negativo (VPN) = 92,0%; Taxa de Falso Positivo (TFP) = 8,0%; Taxa de Falso Negativo (TFN) = 8,0%; Acurácia (A) = 92,0%

$$\chi^2 = 35,28; p < 0,0001$$

Tabela 3 – Tempo referido de RUPREME nos 48 casos estudados (24 para cada grupo)

	Grupo P1				Grupo P2				<i>p</i>
	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	
Tempo (h)	7,25	7,0	0	26	16,5	12,5	1	48	<0,004*

$\bar{x}$  : média;  $\sigma$ : desvio padrão; m: valor mínimo; M: valor máximo; *p*: nível de significância

\* teste de Mann-Whitney

Tabela 4 – Tempo entre realização do teste e nascimento, idade gestacional no parto, Capurro, peso fetal e tempo de internação materna conforme o resultado do teste da PAMG-1

	PAMG-1 (+)				PAMG-1 (-)				<i>p</i> *
	n=25				n=25				
	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	$\bar{x}$	$\sigma$	m	M	
TEN (h)	29,0	66,6	2,0	332,0	287,8	364,0	4,0	1080,0	0,0001
IGP (sem)	36,8	3,5	29,1	41,3	37,1	2,6	29,1	40,7	0,9
Capurro (sem)	37,2	3,2	29,0	41,1	37,5	2,5	32,0	41,0	1,0
Peso fetal (g)	2811,0	694,0	1160,0	4140,0	2858,0	581,1	1375,0	4200,0	0,9
TIM (h)	29,0	9,4	24,0	48,0	130,0	239,5	24,0	1080,0	0,001

$\bar{x}$  : média;  $\sigma$ : desvio padrão; m: valor mínimo; M: valor máximo; *p*: nível de significância; TEN: tempo entre exame e nascimento; (h): horas; IGP: idade gestacional no parto; (sem): semanas; (g): gramas; TIM: tempo de internação materna

\* Teste de Mann-Whitney

**Figuras**

Figura 1 – Tempo entre a realização do teste da PAMG-1 e o nascimento conforme o resultado do teste da PAMG-1

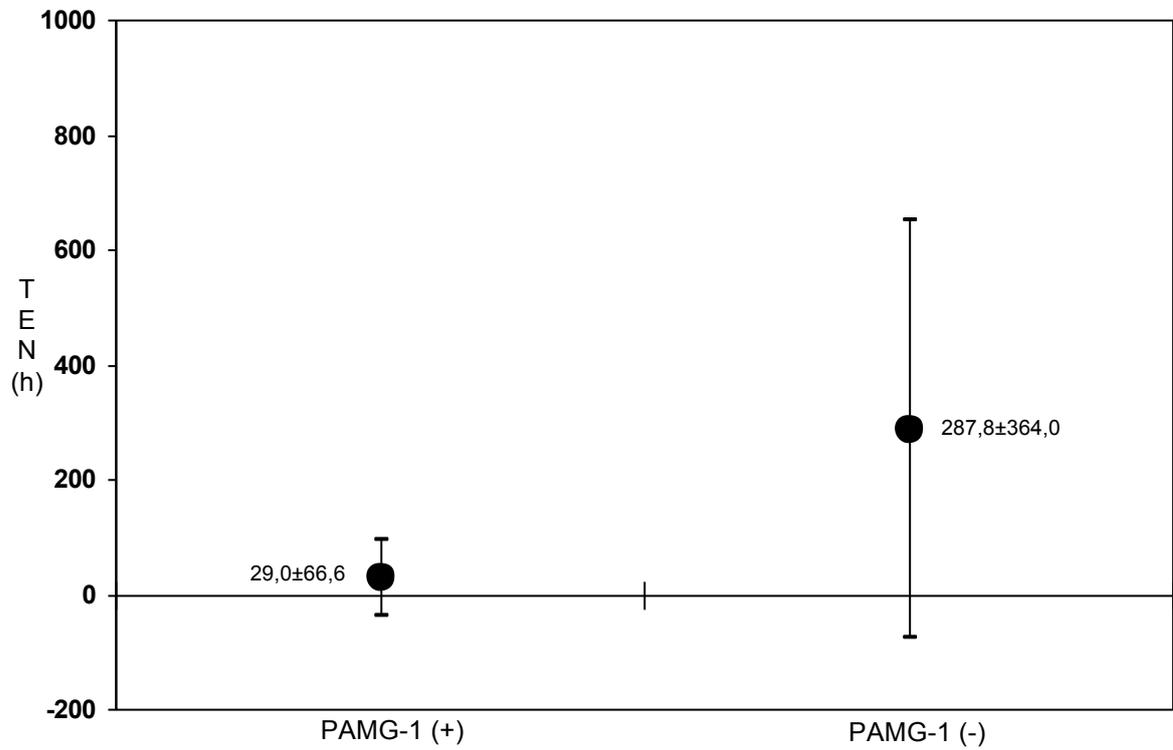


Figura 2 – Tempo de internação materna para as pacientes conforme o resultado do teste da PAMG-1

