

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

**EXAME MICROSCÓPICO DO CÓRIO PLACENTÁRIO
PARA O DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE INFECÇÃO
AMNIÓTICA**

LAURA FREGONASSI RIBEIRO FRAGA

VITÓRIA
2013

LAURA FREGONASSI RIBEIRO FRAGA

**EXAME MICROSCÓPICO DO CÓRIO PLACENTÁRIO
PARA O DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE INFECÇÃO
AMNIÓTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para aprovação no mestrado em Doenças Infecciosas.

Orientador: Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas

VITÓRIA
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

F811e Fraga, Laura Fregonassi Ribeiro, 1982-
Exame microscópico do cório placentário para o diagnóstico rápido de infecção amniótica / Laura Fregonassi Ribeiro Fraga. – 2013.
131 f. : il.

Orientador: Fausto Edmundo Lima Pereira.
Coorientador: Paulo Roberto Merçon de Vargas.
Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Líquido amniótico. 2. Infecção. 3. Membranas fetais. 4. Patologia. 5. Gravidez. 6. Diagnóstico pré-natal. I. Pereira, Fausto Edmundo Lima. II. Vargas, Paulo Roberto Merçon de. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

A mestranda LAURA FREGONASSI RIBEIRO FRAGA apresentou a dissertação intitulada “EXAME MICROSCÓPICO DO CÓRIO PLACENTÁRIO PARA DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE INFEÇÃO AMINIÓTICA” em sessão pública, no dia 30 de agosto de 2013, como requisito final para obtenção do título de **Mestre em Doenças Infecciosas**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar a médica LAURA FREGONASSI RIBEIRO FRAGA a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 30 de agosto de 2013

Prof. Dr. Luiz Cláudio França
(Membro Externo)

Prof. Dra. Angelica Espinosa Barbosa Miranda
(Membro Interno)

Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira
(Orientador)

Prof. Dr. Paulo Roberto Mercón de Vargas
(Coorientador)

AGRADECIMENTOS

A todos os mestres, pela dedicação ao ensino.

Ao doutor Fausto Edmundo Lima Pereira pelo incentivo e pela disponibilidade.

Ao doutor Paulo Roberto Merçon de Vargas, pelo apoio, comprometimento com a educação, ensinamentos e imensurável contribuição e dedicação para a realização deste estudo.

Aos médicos residentes de Patologia, Drs. Antonio Alfim Malanchini Ribeiro e Larissa Kerr de Araújo, aos colegas, Drs. Robson Dettmann Jarske, Diego Colodetti e João Vinícius Cremasco Fraga, e à interna do SAP/HUCAM, Karina da Silva Araujo, pela ajuda na coleta dos espécimes nos casos do HUCAM.

Agradeço de forma especial aos graduandos de medicina, estagiários do GEPR/DP/CCS/UFES, Rafael Calil Salim, pela documentação fotográfica, Rafaela Batisti Nery, Daniel Ribeiro da Rocha, Karina da Silva Araujo, Drielli Petri Rossato, Lilian Paula Ribeiro e aos muitos alunos de Patologia Geral do Prof. Paulo pela obtenção e organização da bibliografia e organização dos documentos. De forma especial, agradeço Maria de Fátima Moreira da Silva Costa, Olivia Ferreira Lucena e Lilian Paula Ribeiro pela ajuda na extração e digitação de dados e pela imensa contribuição para a consistência dos dados. À Lilian Paula Ribeiro agradeço também a colaboração durante a organização do texto. E a Daniel Ribeiro da Rocha, agradeço ainda a inestimável ajuda na análise estatística e elaboração da apresentação dos dados.

À Dr^a Maria Clara Reder de Souza Scherrer, minha colega no Serviço de Patologia do Hospital Evangélico de Cachoeiro de Itapemirim, pela compreensão, incentivo e por assumir parte das minhas atividades durante o meu afastamento para cumprir os créditos e as tarefas do curso de pós-graduação.

Aos colegas do Serviço de Verificação de Óbito, ES, em especial ao Dr. Allan Kardec de Castro Neto por assumir parte das minhas atividades durante o meu afastamento para cumprir os créditos do curso de pós-graduação.

Aos funcionários do Serviço de Patologia do HUCAM pela ajuda durante a realização deste estudo.

***“Eu não procuro saber as respostas,
procuro compreender as perguntas.”***

Confúcio

RESUMO

A infecção amniótica e a corioamnionite (CAM) são determinantes de infecções materna e perinatal, parturição e nascimento pretermo e morbi-mortalidade pós-natal. Embora métodos clínicos, histopatológicos, microbiológicos, bioquímicos e moleculares possam diagnosticar CAM, nenhum logrou amplo emprego, permanecendo muitos casos clínica e epidemiologicamente ocultos. O presente estudo analisa o exame do cório placentário (EECP) proposto por Blanc (1953) para o diagnóstico de CAM a tempo de orientar o manejo da puérpera e do neonato sob risco.

Objetivo. Determinar o valor e a reprodutibilidade do EECP em comparação com a histopatologia convencional (HP).

Material e métodos. Dentre as placentas examinadas entre 2008 e 2012, em dois laboratórios de Vitória, ES, um público (HUCAM) e um privado (PAT), foram selecionadas 1626, incluindo: uma amostra de corte transversal (HCT, n: 108) e duas séries consecutivas examinadas por suspeita neonatal de CAM (HIB, n: 193) e por variadas indicações obstétricas (PIV, n: 1325). O EECP foi realizado no puerpério imediato (HIB e HCT) ou como primeira etapa da HP (PIV). Os casos foram categorizados por procedência, idade gestacional, desfecho perinatal, método de exame, estágio e grau da CAM e foram calculados índices de valor diagnóstico e concordância entre os dois métodos (EECP e HP).

Resultados. CAM por HP foi observada em 12,8% dos casos (HCT: 31,5% e PIV: 11,3%) dos quais 2,4% com resposta inflamatória fetal; CAM pelo EECP foi observada em 14,2% (HCT: 41,7%, HIB: 31,1% e PIV: 9,1%). O EECP revelou-se exequível e rápido, com sensibilidade 50,0%, especificidade 93,7%, valores preditivos positivo 53,8% e negativo 92,7% e razões de verossimilhança positiva 7,9 e negativa 0,53. Concordância entre EECP e HP foi observada em 88,8%, diagnóstico apenas pelo EECP em 5,7% e apenas pela HP em 5,5% (*kappa*: 0,45).

Conclusão. O EECP pode ser empregado para o diagnóstico rápido de CAM. Trata-se de método exequível, que tem bons índices de valor diagnóstico e pode ser útil para orientar a conduta no puerpério e período neonatal imediatos.

Palavras-chave: gestação; neonato; membranas fetais; infecção amniótica; corioamnionite; patologia; teste diagnóstico.

ABSTRACT

Amniotic infection and chorioamnionitis (CAM) are determining factors of maternal and perinatal infections, preterm births and postnatal mortality and morbidity. As none of clinical, microbiological, biochemical, molecular and histopathological proposed methods for CAM diagnosis has achieved broad and routine employment, many cases remain clinical and epidemiologically occult. After Blanc's proposal (1959), this study analyzes the placental chorionic sampling and microscopical examination (EECP) at early postpartum period to CAM diagnosis in order to help a timely clinical decision to treat the risk mother and newborn infant.

Objectives. To establish the diagnostic value and the reproducibility of EECP compared to conventional histopathology (HP) CAM diagnosis.

Material e Methods. Out from all placentas examined between 2008 and 2012, in two Pathology laboratories at Vitória City, southwestern Brazil, one public (HUCAM) and one private (PAT), 1626 were selected including: a cross-sectional sampling (HCT, n: 108) and two consecutive cases series examined after neonatal clinical infection suspicion (HIB, n: 193) and varied others obstetrical indications (PIV, n: 1325). The EECP was done at immediate postpartum period (HIB and HCT) or as the first step of HP examination (PIV). The cases were categorized by study groups, gestational age, perinatal outcome, method of examination, CAM stage and grade, and the statistic indexes of agreement and diagnostic value between the two methods (EECP and HP) were calculated.

Results. In overall cases, CAM diagnosis by HP were observed in 12.8% (HCT: 31.5% e PIV: 11.3%) from which 2.4% with a fetal inflammatory response; CAM diagnosis by EECP were observed in 14.2% (HCT: 41.7%, HIB: 31.1% e PIV: 9.1%). The EECP revealed itself to be a fast and easy to perform method, with 50.0% sensitivity, 93.7% specificity, 53.8 predictive positive and 92.7% predictive negative values, and 7.9 likelihood positive and 0.53 likelihood negative ratios. Agreement between EECP and HP were observed in 88.8%, CAM diagnosis only by EECP in 5.7% and only by HP in 5.5% (*kappa*: 0,45).

Conclusion. The EECP method could be an important contribution to fast CAM diagnosis. It is easy to perform, with significant statistic indexes of diagnosis value and can be helpful to guide the clinical decision at early postpartum period.

Keywords: Pregnancy; Neonate; Fetal Membranes, Amniotic Infection; Chorioamnionitis; Pathology; Diagnosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas	75
Tabela 2 - História obstétrica, da gestação atual e da terminação	76
Tabela 3 - Características do desfecho perinatal	78
Tabela 4 - Ocorrência de CAM de acordo com o método de exame.....	84
Tabela 5 - Índices de concordância entre o diagnóstico de CAM por EECP e por HP nos grupos HCT e PIV	95
Tabela 6 - Índices de concordância entre o diagnóstico de CAM por EECP e por HP nos grupos HCT e PIV	97
Tabela 7 - Índices de concordância entre o diagnóstico de CAM pelo espécime do EECP e por HP segundo características do espécime do EECP	99
Tabela 8 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM por EECP e por HP nos grupos HCT e PIV	103
Tabela 9 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM por EECP e por HP no grupo HCT.....	104
Tabela 10 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM por EECP e por HP no grupo PIV	105
Tabela 11 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM pelo espécime do EECP e por HP nos grupos, segundo características do espécime do EECP	106

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Comparação da ocorrência de CAM por EECP e HP nos grupos do estudo	85
Gráfico 2 - Distribuição topográfica do exsudato inflamatório em 178 casos de CAM nos grupos HCT e PIV	87
Gráfico 3 - Estágios da CAM HP nos vários grupos do estudo	88
Gráfico 4 - Graus da CAM HP nos vários grupos do estudo	89
Gráfico 5 - Ocorrência de FIR nos grupos HCT e PIV	90
Gráfico 6 - Ocorrência de FIR segundo o estágio da CAM HP nos grupos HCT e PIV	90
Gráfico 7 - Ocorrência de FIR segundo o grau da CAM HP nos grupos HCT e PIV ..	91
Gráfico 8 - Comparação da ocorrência de CAM por EECP, HP e EECP ou HP nos vários grupos do estudo	92
Gráfico 9 - Ocorrência de FIR segundo a existência de CAM por EECP nos grupos HCT e PIV	93
Gráfico 10 - Distribuição da existência de FIR segundo o grau da CAM por EECP no grupo PIV	93
Gráfico 11 - Índices de contraste do diagnóstico de CAM por EECP e FIR segundo o grau do exsudato no EECP no grupo PIV	94
Gráfico 12 - Existência de CAM nos grupos HCT e PIV, por EECP e HP	95
Gráfico 13 - Índices de contraste do diagnóstico de CAM por EECP e por HP nos grupos HCT e PIV	96
Gráfico 14 - Estágios da CAM HP segundo a existência de CAM por EECP nos grupos HCT e PIV	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fotomicrografia dos anexos fetais inseridos no útero materno.....	18
Figura 2 - Estrutura anatômica dos anexos fetais	19
Figura 3 - Estrutura anatômica dos anexos fetais inseridos no útero materno.....	19
Figura 4 - Estrutura das membranas fetais	21
Figura 5 - Vias da infecção congênita, segundo Blanc.....	27
Figura 6 - Disseminação da infecção congênita nos anexos fetais e no feto	27
Figura 7 - Estágios da CAM, segundo Blanc.....	31
Figura 8 - Fotomicrografias de cortes histológicos da placenta e MEP	31
Figura 9 - Fotomicrografias da resposta inflamatória fetal em cortes histológicos	32
Figura 10 - Métodos diagnósticos de infecção amniótica.....	40
Figura 11 - Fotomicrografia da placenta com CAM macroscópica.....	42
Figura 12 - Método de coleta de espécime para exame extemporâneo do âmnio e do cório placentário, segundo o proposto por Blanc (1953)	43
Figura 13 - Materiais utilizados para coleta do espécime do cório placentário	54
Figura 14 - Identificação, marcação do pólo inferior e limpeza da placenta.....	55
Figura 15 - Preparação para coleta do cório placentário.....	56
Figura 16 - Coleta do cório placentário segundo técnica do esfregaço.....	57
Figura 17 - Coleta do cório placentário segundo técnica do squash	58
Figura 18 - Coleta do cório placentário segundo técnica do laminado	59
Figura 19 - Fotomicrografias do raspado e do laminado	61
Figura 20 - Fotomicrografia do esfregaço do cório placentário	62
Figura 21 - Fotomicrografias do squash do cório placentário.....	62
Figura 22 - Fotomicrografias do espécime do laminado.....	63
Figura 23 - Fotomicrografias dos achados típicos do cório placentário.....	63
Figura 24 - Banco de dados	65

LISTA DE SIGLAS

CAM	Corioamnionite
CLAP	Centro Latino-Americano de Perinatologia e Desenvolvimento Humano
CGA	Campo microscópico de grande aumento
CP	Cório placentário
CUMB	Cordão umbilical
DHEG	Doença hipertensiva específica da gestação
E	Especificidade
EECP	Exame anátomo-patológico extemporâneo do cório placentário
ES	Estado do Espírito Santo
F-	Falso negativo
F+	Falso positivo
FIR	Resposta inflamatória fetal (<i>Fetal Inflammatory Response</i>)
FIRS	Síndrome da resposta inflamatória fetal (<i>Fetal Inflammatory Response Syndrome</i>)
GCT	Ganho de conhecimento com o teste
GEPR	Grupo de Estudo de Patologia da Reprodução, Departamento de Patologia, CCS/UFES
HCT	Amostra de corte transversal do HUCAM, originalmente empregada para o estudo das relações entre doença perinatal e desfecho reprodutivo
HIB	Amostra consecutiva do HUCAM, de placentas com suspeita clínica neonatal de infecção amniótica
HP	Exame histopatológico convencional (rotineiro)
HUCAM	Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes
IC	Intervalo de confiança
ID	Incremento direto
IG	Idade gestacional
IMC	Índice de massa corporal
k	<i>kappa</i>

MEP	Membrana extra-placentárias
Nef	Número efetivo de casos examinados
NNE	Número necessário para o efeito
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
PAT-AP	Laboratório PAT- Anatomia Patológica
PIV	Amostra consecutiva do Laboratório PAT- Anatomia Patológica de placentas encaminhadas por indicações clínicas obstétricas variadas
PMN	Leucócitos polimorfonucleares
PPROM	Rotura prematura pretermo das membranas fetais (<i>Preterm Premature Rupture of Membranes</i>)
PRMV	Paulo Roberto Merçon de Vargas
PROM	Ruptura prematura das membranas fetais (<i>Premature Rupture of Membranes</i>)
RS	Razão simples
RV-	Razão de verossimilhança negativa
RV+	Razão de verossimilhança positiva
S	Sensibilidade
SAP	Serviço de Patologia do HUCAM
SIP	Sistema Informático Perinatal do CLAP
SOE	Sem outras especificações
SPM	Semanas pós-menstruais completas
SUS	Sistema Único de Saúde
TF-	Taxa de falso negativo
TF+	Taxa de falso positivo
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UTIN	Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal
VP-	Valor preditivo negativo
VP+	Valor preditivo positivo

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	17
1.1- Anatomia dos anexos fetais	17
1.2- Infecção e Inflamação dos anexos fetais	23
1.3- Infecção amniótica e corioamnionite	24
1.3.1- Etiologia e patogênese.....	24
1.3.2- Anatomia patológica.....	28
1.3.3- Fisiopatologia	33
1.3.4- Epidemiologia.....	38
1.4- Diagnóstico de infecção amniótica e de corioamnionite.....	39
1.4.1- Diagnóstico clínico e por métodos complementares	39
1.4.2- Diagnóstico anatomopatológico	41
1.5- Exame Extemporâneo dos Anexos Fetais	43
1.6- Justificativa.....	46
2- OBJETIVOS	47
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS	48
3.1- Delineamento do Estudo.....	48
3.2- Casuística	50
3.2.1- Procedência dos casos.	50
3.2.2- Seleção da amostra final.....	52
3.3- Métodos	52
3.3.1- Exame anatomopatológico convencional dos anexos fetais	52
3.3.2- Exame anatomopatológico extemporâneo do cório placentário (EECP).....	54
3.4- Fontes e processamento dos Dados.....	64
3.4.1- Fontes dos dados.....	64

3.5- Análise substantiva	66
3.5.1- Grupos do estudo.....	66
3.5.2- Conversão e categorização das variáveis.....	66
3.5.3- Distribuição combinada de atributos.	70
3.6- Análise estatística	70
3.7- Modelo de apresentação dos resultados.....	71
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
4.1- Características dos casos estudados.....	73
4.1.1- Amostra e dados	73
4.1.2- Características demográficas maternas.....	74
4.1.3- Características da gestação atual	74
4.1.4- Desfecho perinatal	77
4.2- Espécime do exame extemporâneo do cório placentário.....	79
4.2.1- Obtenção do espécime do cório placentário.	79
4.2.2- Colorações cito e histopatológicas.....	81
4.2.3- Quantidade e representatividade dos espécimes do cório placentário	81
4.2.4- Custo e tempo de exame	83
4.2.5- Exequibilidade do exame extemporâneo do cório placentário.	83
4.3- Ocorrência de corioamnionite	83
4.3.1- Ocorrência de CAM histopatológica.....	83
4.3.2- Espectro nosológico da CAM	85
4.3.3- Ocorrência de CAM pelo EECp	91
4.4- Estudo da concordância entre o EECp e a HP	94
4.4.1- Concordância entre os métodos no conjunto dos casos.....	94
4.4.2- Variação da concordância conforme o espectro da CAM	96
4.5- Índices de valor diagnóstico do EECp	100
4.5.1- Índices de valor diagnóstico do EECp no conjunto dos casos.....	100

4.5.2- Variação dos índices de valor diagnóstico conforme o espectro da CAM.....	101
4.6- Limitações do estudo e do método	107
4.6.1- Limitações do estudo	107
4.6.2- Limitações do método EECP	108
4.7- Sumários dos achados do estudo	108
5 – CONCLUSÕES	110
6 – PLANOS.....	112
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
ANEXOS	120

1- INTRODUÇÃO

“Ah, meu amigo, nem no ovo o pinto está intacto”. Guimarães Rosa

Desde os tempos mais remotos, há compreensão que gestação e parturição não estão livres de problemas, que um desfecho ruim é frequente e que nos compete minorar estes problemas.

Entre estes sobressaem, por sua frequência e consequências, as infecções, sobretudo a infecção amniótica. Evidências recentes sugerem que a infecção amniótica é um importante determinante da parturição e de nascimentos pretermos e que estes contribuem mais que a própria infecção fetal para o desfecho ruim^{LEDGER 2008, GOLDMAN 2008}. Por si e/ou pela prematuridade decorrente, a infecção amniótica é uma causa de morbidade materna, morbidade e mortalidade perinatais e tem sido associada com doenças pulmonar e encefálica (paralisia cerebral) crônicas.

A compreensão deste determinismo e o conhecimento da real dimensão do problema representado pela infecção amniótica são difíceis porque a maioria destas infecções não é diagnosticada e permanece clínica e epidemiologicamente oculta.

O tema do presente estudo é a corioamnionite (CAM), a expressão morfológica da infecção amniótica que constitui o padrão-ouro para seu diagnóstico^{ANDREWS 2006, JESSOP 2011, VARLI 2013}. Em consonância, o enfoque desta introdução será limitado à revisão dos aspectos pertinentes à anatomia dos anexos fetais, à anatomia patológica da CAM e ao diagnóstico morfológico da infecção amniótica.

1.1- Anatomia dos anexos fetais

A gravidez humana distingue-se da dos mamíferos inferiores em dois aspectos: a placentação é intersticial, isto é, o ovo está contido no interstício do endométrio e

não na cavidade uterina e os anexos fetais alantóide e saco vitelino, regridem precocemente de modo que, no II e III trimestres, os anexos fetais estão constituídos apenas pelas membranas fetais extra-placentárias (MEP), placenta e cordão umbilical. O conhecimento anatômico essencial para a compreensão da anatomia patológica da CAM diz respeito à cavidade amniótica, seu conteúdo e as estruturas anatômicas que a delimitam.

A cavidade amniótica contém o feto e o cordão umbilical e é delimitada pelas duas estruturas das membranas fetais: o âmnio e o cório, ambas derivadas do ovo. Estas membranas consistem do âmnio e do cório, conectados por uma matriz extracelular. O âmnio é a membrana mais interna, em contato direto com o líquido amniótico. O cório é uma membrana aderida por sua face interna ao âmnio e por sua face externa à decídua, o endométrio modificado pela gravidez^{BOURNE 1962, MENON 2007, McLAREN et. al. 1999} (figuras 1 a 3).



Figura 1 - Fotomacrografia dos anexos fetais inseridos no útero materno
Fonte: UFES / CCS / DP / PRMV

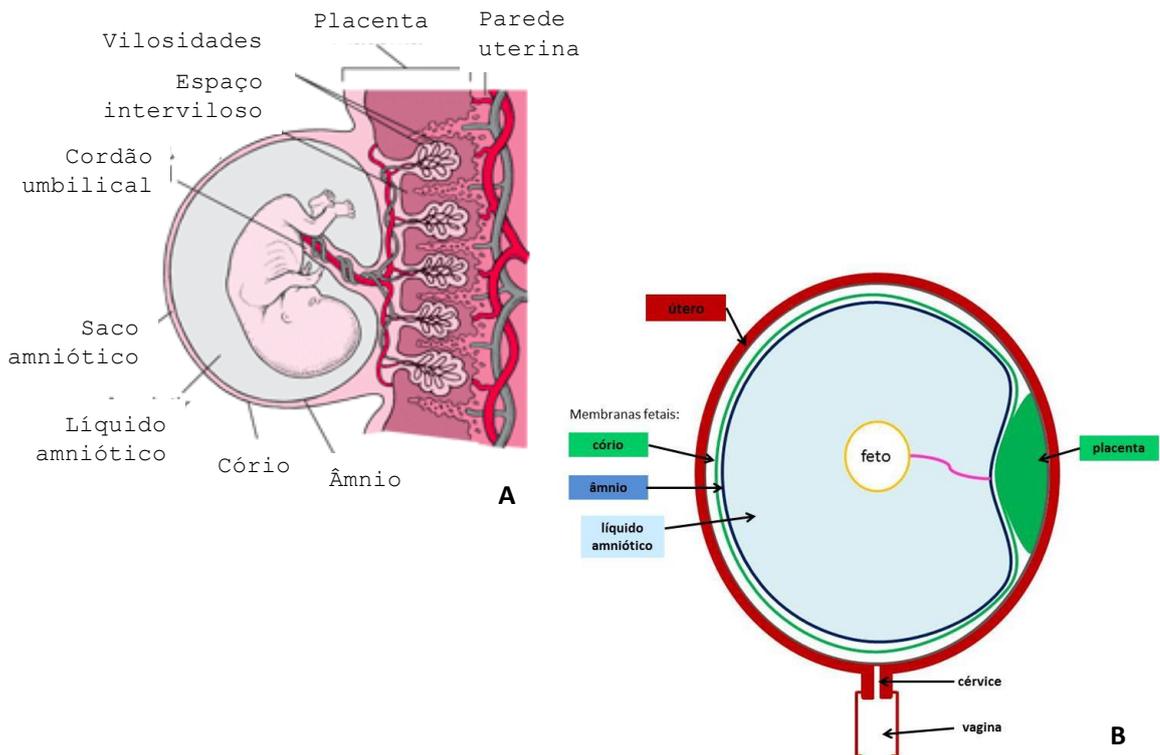


Figura 2 - Estrutura anatômica dos anexos fetais

Visão geral da placenta, membranas fetais e feto (A). Esquema relacionando anexos fetais e cavidade uterina (B).

Fontes: UFES / CCS / DP / PRMV; <http://anatpat.unicamp.br/indexalfa.html>

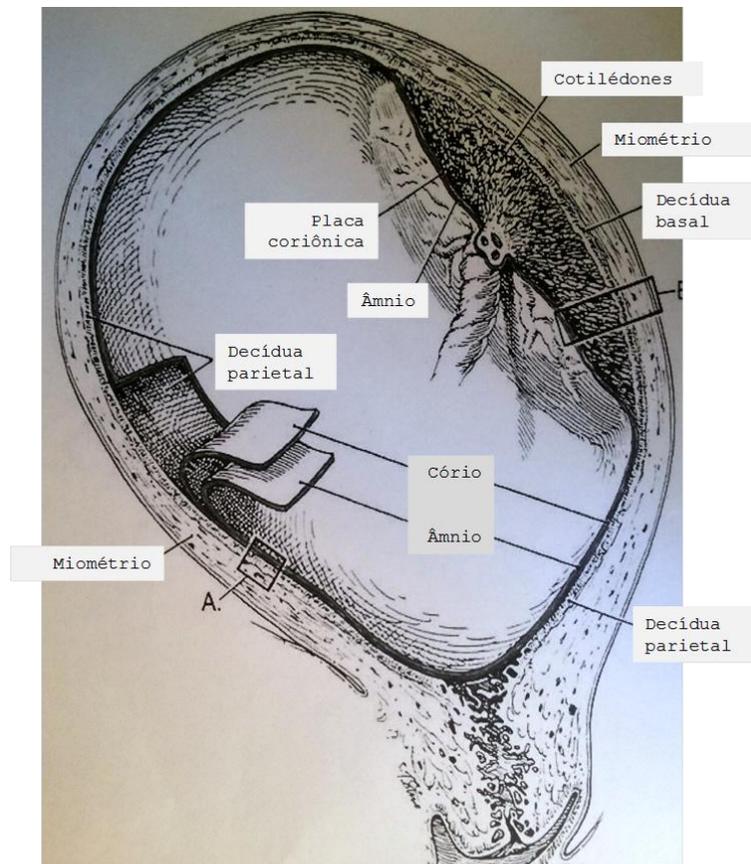


Figura 3 - Estrutura anatômica dos anexos fetais inseridos no útero materno

Fonte: UFES / CCS / DP / PRMV

Até 14 a 16 semanas, o âmnio e o cório delimitam cavidades distintas, mas com o crescimento maior do âmnio, ocorre a fusão do âmnio com o cório, obliterando a cavidade coriônica. Por esta razão, alguns se referem, a partir de então, ao âmnio e cório fundidos como corioâmnio.

Considerados em conjunto, o âmnio e o cório e a decídua materna, como vistos após o parto, compõem um órgão complexo com uma estrutura de membrana formada por várias camadas apostas (figura 4), cuja anatomia é bem conhecida^{BOURNE 1960 e 1962, McLAREN et. al. 1999, MENON 2007}. Da face interna (amniótica) à externa (decídua), compõe-se de:

1. **Âmnio** formado tanto por epitélio como por tecido mesenquimal, com espessura entre 0,2 a 0,5mm, composto por:
 - a. **Epitélio amniótico**: cúbico a cilíndrico, uniestratificado, intimamente em contato com o líquido amniótico;
 - b. **Membrana basal amniótica**;
 - c. **Camada compacta** formada por densa e complexa rede de fibras reticulares, acelular; é a camada mais forte e raramente se espessa quando há edema;
 - d. **Camada fibroblástica**, a camada mais espessa, formada por uma rede frouxa de fibroblastos;
2. **Camada esponjosa** formada por faixas frouxas e onduladas de reticulina, imersas em abundante matriz extracelular, remanescente do celoma extra-embriônico; como um tecido mucoso, tem propriedades tixotrópicas, variando sua quantidade de água livre e seu estado físico com pressão, temperatura, pH e higroscopia dos proteoglicanos e glicosaminoglicanos; esta camada permite que o âmnio deslize sobre o cório;
3. **Cório**: formado apenas por tecido mesenquimal, mais espesso que o âmnio, porém mais fraco; composto por:
 - a. **Camada celular**: fina, formada por rede de fibras reticulares e fibroblastos;
 - b. **Camada reticular**: forma a grande parte da espessura do cório e consiste de uma malha de fibras que tendem a ser paralelas, com poucas células mesenquimais;

- c. **Pseudomembrana basal** semelhante às membranas basais, fortemente aderida à camada reticular e ancorada ao trofoblasto subjacente;
- d. **Trofoblasto**: a camada mais externa do cório, formada por várias camadas de células trofoblásticas do tipo intermediário, em contato direto com a decídua materna; a aposição do trofoblasto à decídua não é homoganeamente paralela, podendo haver considerável penetração do trofoblasto na decídua.
4. **Decídua**, membrana formada pelo endométrio modificado, portanto não uma membrana fetal; como a sua maior parte dequita com as membranas fetais e pode ser observada no espécime, está incluída como parte das membranas extra-placentárias.

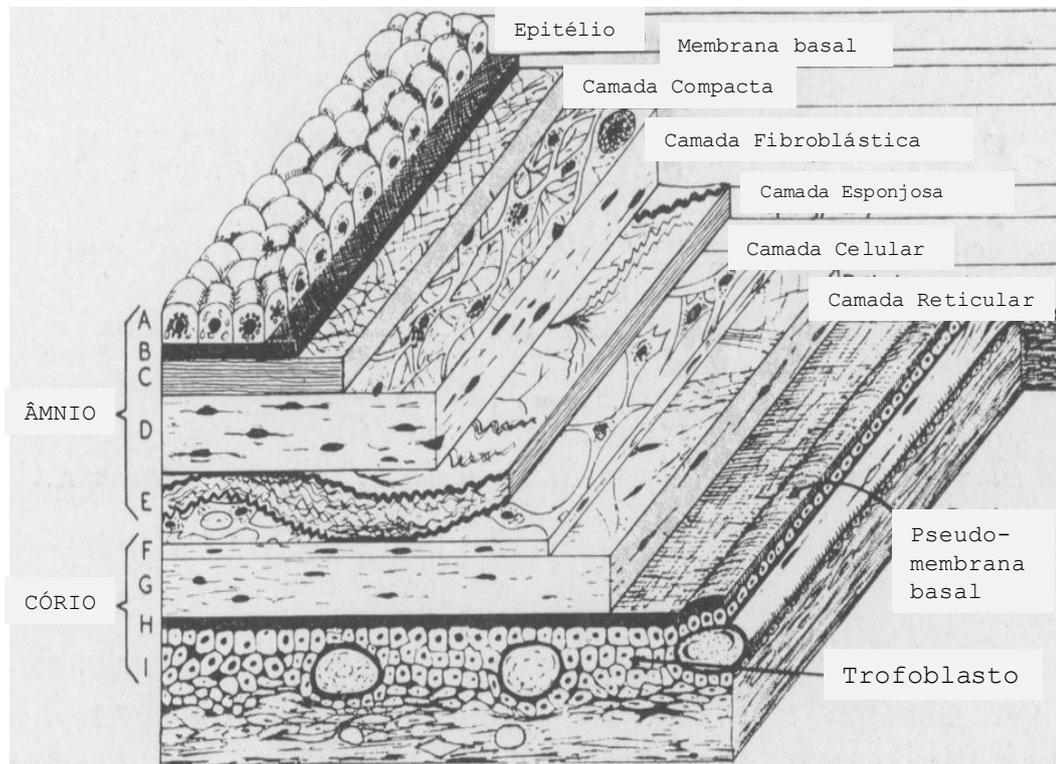


Figura 4 - Estrutura das membranas fetais

Fonte: BOURNE G 1962 - The foetal membranes

Nas camadas fibroblástica e esponjosa do âmnio e celular, reticular e trofoblástica do cório estão presentes os macrófagos fetais, as células de Hoffbauer. Nas membranas fetais extraplacentárias não há vasos sanguíneos. Os vasos vistos na face materna das membranas extra-placentárias são os vasos maternos da decídua. Ainda que avasculares, as membranas fetais são muito permeáveis (porosidade) e

permitem grandes trocas materno-fetais^{BOURNE 1962} através dos canais estromais da matriz extracelular. Uma evidência desta permeabilidade é a frequente pigmentação por mecônio quando este é eliminado no líquido amniótico, condição frequentemente associada com estresse fetal. As trocas entre o líquido amniótico e o sangue materno da decídua através das membranas fetais, circulação transmembrana, são essenciais para a formação e renovação, manutenção do volume e constituição do líquido amniótico^{BOURNE 1962, MODENA 2004}.

A estrutura da placenta é quase idêntica à das membranas acima descrita, uma compreensão difícil de perceber com o habitual conhecimento superficial e dissociado de anatomia, histologia e embriologia. Sobretudo à macroscopia, parece difícil compreender que a arquitetura (*design*) dos anexos fetais é essencialmente a mesma nas membranas extra-placentárias e na placenta. A única e importante diferença é o imenso crescimento do cório mesenquimal e do trofoblasto, compondo uma membrana de troca vilosa, a arborização vilositária. O aspecto estrutural e arquitetural necessário para a compreensão da CAM é que as membranas fetais e a placenta são membranas formadas por várias camadas de tecido, interpostas entre o sangue materno de um lado e o sangue fetal (e o líquido amniótico, funcionalmente uma expansão do interstício) do outro.

Entre ambos há trocas e, se em um lado (sangue materno) ou em outro (líquido amniótico) ocorre infecção (penetração de microrganismos), microrganismos e seus produtos são trocados através das membranas interpostas.

A estrutura do cordão umbilical e dos vasos alantocoriais da placenta é diferente. Neles o sangue fetal está contido nos vasos e estes no mesênquima (cório na placenta e geléia de Wharton no cordão) separado pelo âmnio (âmnio placentário ou âmnio funicular) do líquido amniótico. Há trocas entre este sangue fetal e o líquido amniótico, mas não entre o sangue fetal e o sangue materno.

Como todo o ovo, feto e anexos fetais, estão contidos dentro do endométrio modificado e não na cavidade uterina e como, na verdade, após 14 a 18 semanas, a cavidade uterina está obliterada e a cérvix ocluída pelo tampão mucoso, a única forma de acesso de microrganismos à cavidade amniótica depende da interrupção (solução de continuidade) da decídua.

Antes do parto, em condições normais, isto não ocorre, de modo que, o ovo é estéril. Todavia, frequentemente, antes ou no parto, variadas agressões favorecem a ascensão de microrganismos da vagina para a cérvix e desta para o pólo inferior do ovo, onde se assestam.

A compreensão desta anatomia é essencial para o entendimento das infecções congênitas.

1.2- Infecção e Inflamação dos anexos fetais

Vencidas as barreiras anatômicas e os demais mecanismos de defesa, microrganismos podem infectar os anexos fetais e o feto. As respostas do organismo a estas infecções são de dois tipos: corioamnionite e vilosite. Ambas distinguem-se por agentes, fontes e vias de infecção, patogênese, anatomia patológica, fisiopatologia, manifestações clínicas e desfecho e demandam conhecimento e intervenções médicas específicas.

A vilosite pode constituir a expressão morfológica (anatomia patológica) de dois processos patológicos distintos: rejeição de hospedeiro *versus* enxerto e infecção transplacentária. A segunda é a inflamação desencadeada por microrganismos que alcançam os anexos fetais (e, posteriormente, o feto) por via hematogênica ou transplacentária, isto é, o microrganismo presente no sangue materno (*T gondii*, *T palidum*, citomegalovírus, HSV, HIV, parvovirus B19, etc.) quando atingem o espaço interviloso infectam as vilosidades coriônicas. Inflamação vilositária, então, pode ser ou não infecção transplacentária, mas a expressão morfológica em ambos os casos é uma inflamação das vilosidades coriônicas. É lesão mais rara que a CAM e não se inclui no escopo deste estudo.

Por outro lado, a corioamnionite é a expressão morfológica da infecção do líquido amniótico nas membranas que delimitam a cavidade amniótica.

1.3- Infecção amniótica e corioamnionite

1.3.1- Etiologia e patogênese

É consenso considerar que o desenvolvimento fetal ocorre em ambiente estéril e que a primeira exposição a microrganismos ocorre ao nascimento^{SWEET & GIBBS 2002, ROMERO 2007}. O líquido amniótico é estéril, de modo que a identificação nele de microrganismo, seus produtos ou mediadores da inflamação, indicam infecção e são sempre anormais^{ROMERO 2006}. De fato, menos de 1% do líquido amniótico em gestações a termo, antes do trabalho de parto e sem rotura de membranas, contém bactérias. Esta proporção aumenta muito no trabalho de parto e ainda mais se isto ocorre no pretermo, se as membranas se rompem e se o trabalho de parto é prolongado^{ROMERO 2006 e 2007}.

No trabalho de parto, vários fatores favorecem a infecção. No termo, com membranas íntegras, há infecção em até 19%, proporção que aumenta para 34% se há PROM e até 40% se há PPROM^{LEE 2007, SEONG 2008, PARK 2009}. Evidências experimentais e clínicas indicam que as contrações uterinas (e o coito) exercem um efeito de sucção que faz ascender o conteúdo vaginal, propiciando a invasão microbiana do líquido amniótico^{SEONG 2008}.

Infectado o líquido amniótico, a mãe responde prontamente com inflamação da decídua e das membranas fetais (CAM). Já o feto é capaz de deflagrar uma resposta inflamatória (FIR) apenas no II trimestre da gestação, mas não o faz sempre, estimando-se que somente cerca de 10% das infecções amnióticas se acompanham de FIR^{ROMERO 2007}. Na verdade, muitas infecções amnióticas detectadas pelas modernas técnicas moleculares não se acompanham de CAM, indicando que há uma janela de tempo em que ainda não se detecta o exsudato inflamatório, casos que se pode denominar infecção precoce.

O aspecto mais relevante revelado pelas modernas técnicas moleculares aplicadas à detecção de infecção amniótica é que a CAM, se não reflete todas as infecções, pelo menos se correlaciona melhor com infecção amniótica do que a cultura^{LEE 2007},

achado que explica a antiga relutância de considerar toda CAM, ainda que com cultura negativa, como infecção.

De fato, a cultura pode falhar em diagnosticar infecção amniótica em até 42% das CAM em casos de PPRM^{YOON 1996} e mesmo nestes casos, pode ocorrer desfecho ruim, indicando que a inflamação, e não a infecção, é o fator determinante. Uma explicação para este paradoxo é que a CAM pode resultar tanto de bactérias intactas como de seus produtos liberados após a morte da bactéria por antibióticos^{ROMERO 2006}.

Microrganismos associados com infecção amniótica. Embora outras etiologias tenham sido propostas, como líquido amniótico acidificado^{DOMINGUEZ et. al. 1960, BARTER 1962} e mecônio^{DOMINGUEZ et. al. 1960, WIDHOLM et. al. 1963}, atualmente há raras opiniões discordantes^{ZLATNIK et. al. 1990} que a infecção amniótica tem, **sempre**, uma etiologia infecciosa^{FOX 1978, NAEYE 1978, 1983 e 1988, ALTSHULER 1984, PANKUCH et. al. 1984, GUZICK & WINN 1985, HILLIER et. al. 1988, ROMERO et. al. 1988}. Na grande maioria dos casos, os microrganismos são bactérias, raramente é a *Candida sp*; a possibilidade de clamidiose ser uma etiologia frequente tem sido aventada. Como, necessariamente, a fonte dos microrganismos é a vagina, uma boa resposta à pergunta sobre quem causa infecção amniótica é dizer que são microrganismos da flora vaginal.

Uma descrição minuciosa dos microrganismos envolvidos e das alterações da ecologia vaginal que propiciam a infecção amniótica encontra-se na dissertação de mestrado de Batistuta Novaes²⁰⁰³ razão pela qual este tema não será aqui desenvolvido.

Vias de contaminação e etapas da disseminação da infecção amniótica

Teoricamente, os microrganismos podem ter acesso à cavidade amniótica por várias vias ou rotas: ascensão desde a vagina através da cérvix uterina (ascendente transcervical), disseminação hematogênica a partir de foco decidual ou placentário, semeadura retrógrada a partir da cavidade peritoneal e introdução acidental durante procedimentos invasivos^{BLANC 1959, ROMERO 2006} (figura 5). Todavia, na imensa maioria das vezes, a contaminação se dá pela via ascendente transcervical.

A disseminação do microrganismo desde sua origem até o feto, em que pesem algumas divergências, parece seguir um curso temporal e anatômico típico, desde a vagina (fonte), através da cérvix (via), até os anexos fetais e o feto, passando pelo que se podem denominar momentos ou estágios da infecção amniótica:

1. infecção na decídua;
2. disseminação por contiguidade ao corioâmnio das membranas dependentes;
3. disseminação ao líquido amniótico;
4. infecção do feto, inicialmente na pele e por vias transorificiais para ouvido externo e médio, vias áreas superiores e inferiores, tubo digestivo e finalmente, sepsia.

Esta disseminação implica tanto um curso espacial (topográfico) como temporal (histórico), durante o qual, sucessivamente, mãe e feto respondem à infecção com inflamação nos tecidos maternos, anexiais e fetais^{BLANC 1959, PARK 2009}. Essa compreensão é essencial porque permite deduzir quem, em que momento e em que local está reagindo à infecção, constituindo este conhecimento a base da classificação da CAM^{PARK 2009}.

Estudos de grandes séries de casos de CAM revelam que a infecção e a CAM têm um curso relativamente uniforme. À parte o primeiro momento (infecção temporariamente limitada à decídua e corioâmnio das membranas dependentes, em que se observa a correspondente inflamação apenas neste sítio), todos os demais momentos dependem da disseminação do microrganismo e seus produtos (especialmente os quimiotáticos) no líquido amniótico. Tratando-se de meio líquido, esta distribuição do quimiotático é uniforme em todo o líquido amniótico e correspondentemente, observa-se distribuição superficial (ao longo da superfície amniótica das MEP, placenta e cordão umbilical) mais ou menos uniforme do exsudato (figura 6), mas esta ocorre em sequência vertical típica. A migração leucocitária é tipicamente amniotrópica, isto é, os leucócitos migram desde o sangue materno e fetal em direção à cavidade amniótica, de modo que a extensão desta migração revela o tempo em que o processo está em curso. Este conhecimento é a base para o estadiamento anatomopatológico da CAM.

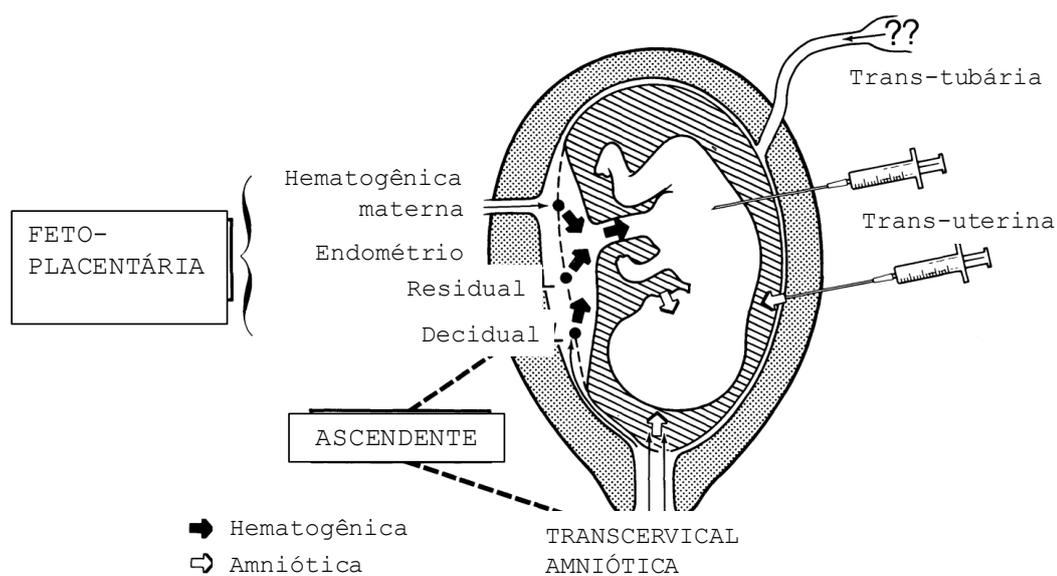


Figura 5 - Vias da infecção congênita, segundo Blanc

Fonte: Blanc WA: Pathology of the placenta, membranes, and umbilical cord in bacterial, fungal, and viral infections in man. In Naeye R, Kissane J, Kaufman N: Perinatal Diseases. Baltimore, Williams & Wilkins, 1981, p 71.

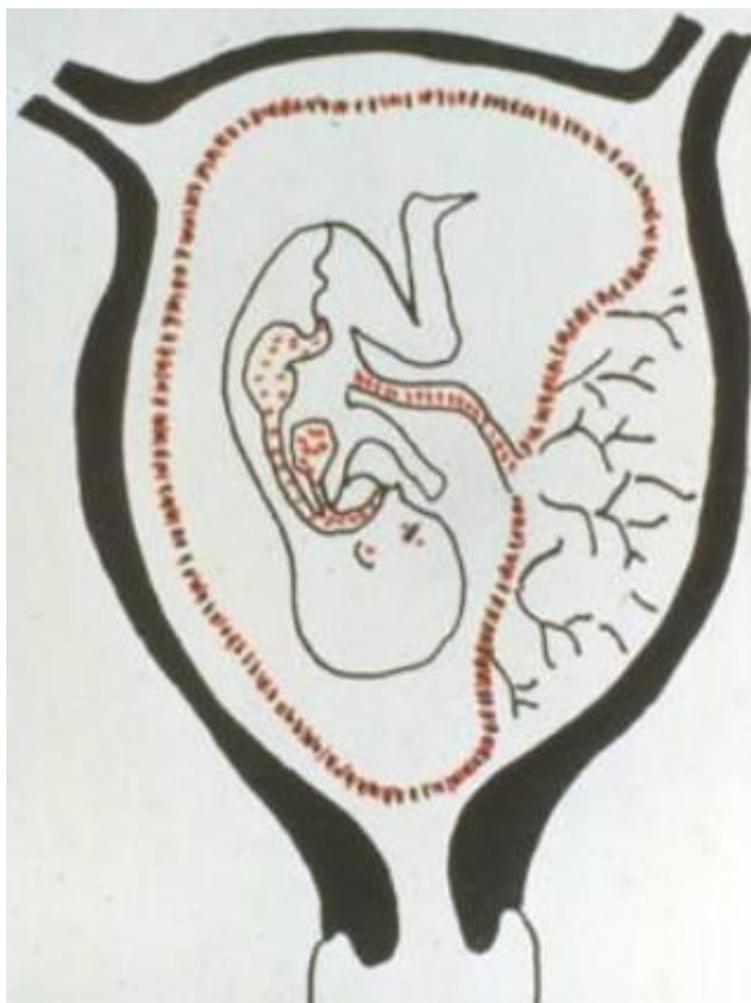


Figura 6 - Disseminação da infecção congênita nos anexos fetais e no feto

Fonte: UFES / CCS / DP / PRMV

1.3.2- Anatomia patológica

O processo patológico da CAM é o de uma inflamação aguda com exsudato de PMN neutrófilos, acompanhada por algum edema e por necrose tecidual nos casos mais avançados. Raramente, observam-se exsudato de linfócitos e macrófagos (**CAM crônica**), uma forma especial de CAM que só recentemente tem recebido mais atenção^{ROMERO 2006 e 2007}.

Teleologicamente, a inflamação tem três principais objetivos: recrutar e localizar células e moléculas para suprimir a agressão (como a infecção), conter localmente, impedindo a disseminação do agressor e promover reparo no tecido lesado. Ainda que seja uma resposta do organismo contra agressões, portanto uma defesa, se exacerbada pode, por si, determinar doença.

A inflamação da CAM em nada se distingue das outras inflamações agudas purulentas de outros sítios do corpo^{JESSOP 2011}, mas sua distribuição nos tecidos e estruturas dos anexos fetais é peculiar.

O que é mais conspícuo na CAM é que o exsudato é nitidamente amniotrópico, isto é, o PMN neutrófilo migra, em qualquer topografia dos anexos fetais, desde o sangue materno ou fetal, em direção à cavidade amniótica, de onde provém o estímulo quimiotático^{BLANC 1959, BENIRSCHKE & CLIFFORD 1959, FOX 1978, JESSOP 2011}.

Como se trata de doença espectral, sua precisa caracterização anatomopatológica tem especial importância, sobretudo quanto à extensão nos tecidos e estruturas anexiais (estágio) e ao grau (intensidade do exsudato) porque ambos correlacionam-se com o curso temporal da infecção^{REDLINE 2003}.

Em que pese alguma controvérsia e variações na categorização dos estágios e graus^{JESSOP 2011, KIM 2001}, o consenso atual é bastante similar à clássica descrição de Blanc, em 1959. São quatro os critérios empregados na classificação da CAM. Primeiramente, classifica-se a CAM quanto à **origem da resposta inflamatória**, se apenas materna ou materna e fetal; em seguida pela **estrutura anexial comprometida**, MEP, placa corial (placenta), vasos alantocoriais e cordão umbilical; depois pela **extensão do exsudato** aferida em cada sítio em termos da camada

mais próxima da cavidade amniótica atingida e por fim, pela **quantidade do exsudato** no sítio mais intensamente afetado.

Nos casos intensos e prolongados, a inflamação pode comprometer todos os anexos fetais, mas há um padrão sequencial típico de comprometimento, paralelo à disseminação do microrganismo: primeiro as membranas dependentes (no pólo inferior do ovo, situado sobre o orifício interno da cérvix), depois em todo corioâmnio das MEP e placenta e por fim, no cordão umbilical.

Devido a este padrão espacial e temporal, combinando a origem, a topografia dos anexos fetais, a extensão e o grau, pôde-se elaborar uma classificação anatomopatológica da CAM que reproduz este padrão e que reflete o tempo de evolução da CAM (figura 7). A tendência recente, seguindo proposta de Redline²⁰⁰³, é classificar pela origem da resposta inflamatória e depois de acordo com a tradicional descrição morfológica de estágio e grau^{BLANC 1959}.

Resposta inflamatória materna: Os leucócitos têm origem no sangue materno da decídua subjacente às MEP ou do espaço intervilososo sob a camada subcorial da placenta (figura 8):

- **Estágio 1:** exsudato na camada subcorial de Langhans (subcorionite aguda ou precoce) ou na camada trofoblástica do cório das MEP.
- **Estágio 2:** exsudato no cório mesenquimal (corionite aguda) da placa corial ou das MEP.
- **Estágio 3:** exsudato no cório e no âmnio (corioamnionite) da placa corial ou das MEP.

Em cada sítio e estágio, a quantidade do exsudato é classificada como:

- **Grau 1:** algum^{FOX & LANGLEY 1971}, poucos leucócitos isolados ou em pequenos grupos de menos de 10 leucócitos/CGA, em qualquer camada^{ALTSCHULER 1997}, 1 a 10 leucócitos/CGA^{ZANARDO 2006, HOLZMAN 2007}.
- **Grau 2:** moderada quantidade de leucócitos, isolados ou confluentes, menor que o grau 3^{ALTSCHULER 1997}, 11 a 30 leucócitos/CGA^{ZANARDO 2006, HOLZMAN 2007}.
- **Grau 3:** grande quantidade de leucócitos tendendo a obscurecer o tecido^{ALTSCHULER 1997}, 31 a 100 leucócitos/CGA^{ZANARDO 2006, HOLZMAN 2007}.

- **Grau 4:** mais de 100 leucócitos/CGA^{HOLZMAN 2007}.

Resposta Inflamatória Fetal. Os leucócitos têm origem no sangue fetal dos vasos alantocoriais da placa corial da placenta ou dos vasos do cordão umbilical. Como a resposta materna, a fetal também evolui em estágios, sendo observada na parede vascular dos vasos alantocoriais ou vasos do cordão umbilical e depois na geléia de Wharton, antes na veia e depois nas artérias; a inflamação também não é difusa ao longo do comprimento do cordão, mas tem uma distribuição multifocal^{KIM 2001} (figura 9). Estes estágios são classificados em:

- **Estágio 1:** exsudato na parede dos vasos alantocoriais (vasculite alantocorial) ou na parede da veia umbilical (flebite umbilical), com ou sem acometimento da geléia de Wharton, sem formar anel concêntrico e sem necrose.
- **Estágio 2:** exsudato em alguma das artérias umbilicais (arterite umbilical), concomitante ou não com exsudato na veia umbilical ou na geléia de Wharton, sem formar anel concêntrico e sem necrose.
- **Estágio 3:** exsudato em qualquer vaso umbilical com halo concêntrico perivascular (vasculite e perivasculite umbilical), com ou sem necrose (vasculite necrosante).

Há duas propostas para graduar a intensidade da resposta inflamatória fetal. A de Redline²⁰⁰³ gradua como:

- **Grau 1:** leve a moderado exsudato de leucócitos no endotélio e média de qualquer vaso alantocorial ou umbilical;
- **Grau 2:** intenso exsudato de leucócitos, frequentemente com necrose, em qualquer vaso alantocorial.

Trombose em vaso associada com vasculite deve ser relatada à parte^{REDLINE 2003}.

Já Altshuler¹⁹⁹⁷ gradua a vasculite umbilical atribuindo 0,5 pontos a cada vaso comprometido, acrescentando-se mais 0,5 pontos por cada vaso com comprometimento intenso, o que corresponde a uma escala de 0 a 3 pontos.

A discussão atual entre os placentólogos é aprimorar um esquema para uso internacional, de modo a aumentar a concordância entre observadores^{REDLINE 2003}, estimada em cerca de 80%.

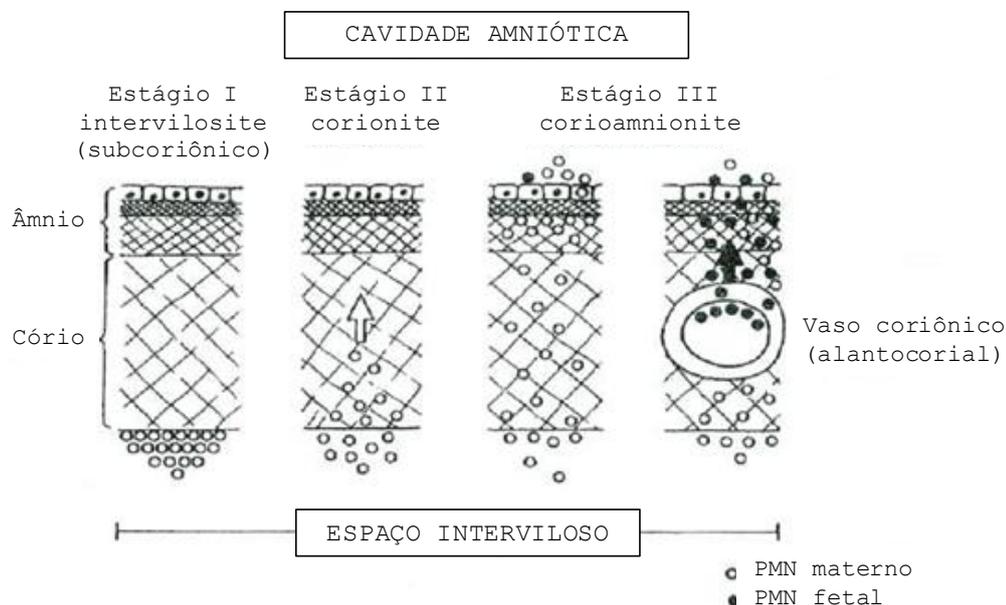


Figura 7 - Estágios da CAM, segundo Blanc

Fonte: Blanc WA: Pathology of the placenta, membranes, and umbilical cord in bacterial, fungal, and viral infections in man. In Naeye R, Kissane J, Kaufman N: Perinatal Diseases. Baltimore, Williams & Wilkins, 1981, p 71.

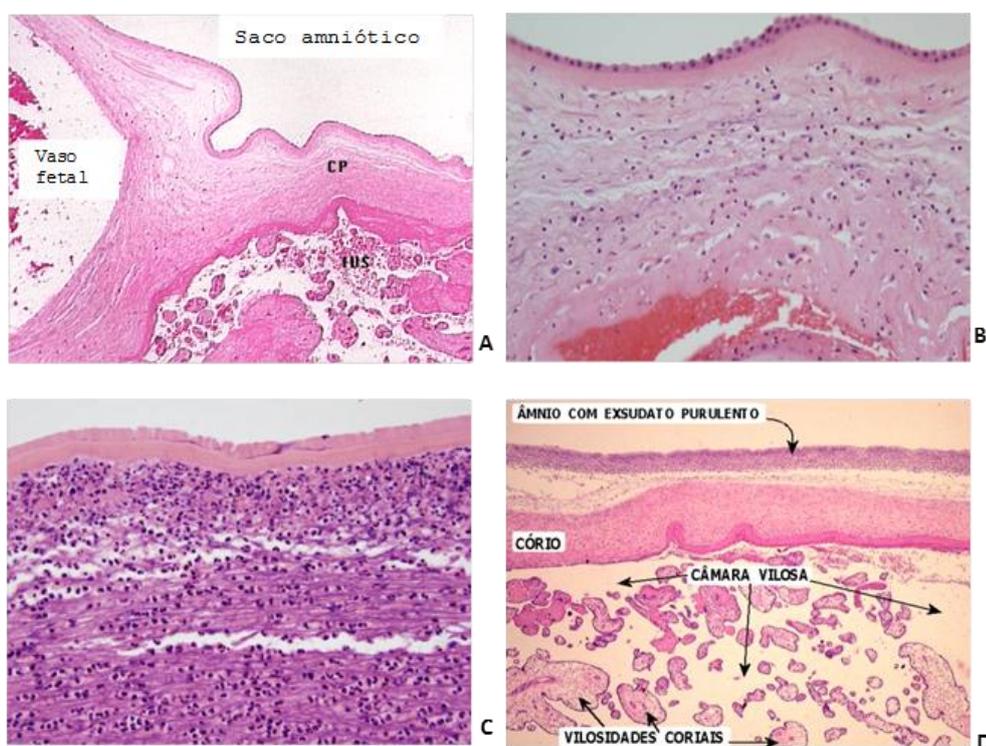


Figura 8 - Fotomicrografias de cortes histológicos da placenta e MEP

Visão geral em pequeno aumento (A); PMN neutrófilos difusamente distribuídos na MEP (B); CAM estágio 2 e grau 3 na placenta (C); CAM estágio 3 e grau 3 em placenta (D). CP: cório placentário

Fonte: <http://anatpat.unicamp.br/indexalfa.html>

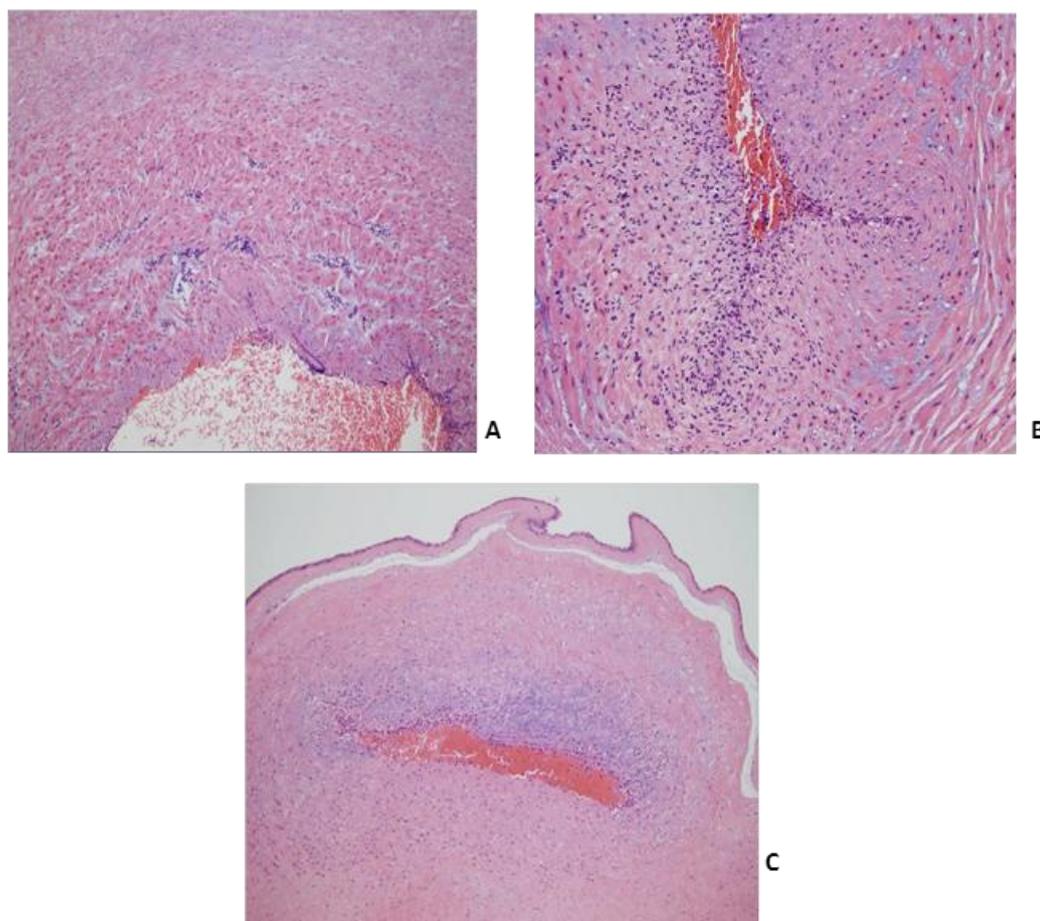


Figura 9 - Fotomicrografias da resposta inflamatória fetal em cortes histológicos

Vasculite alantocorial - estágio 1 (A); Arterite umbilical - estágio 2 (B); Vasculite alantocorial com formação de halo concêntrico - estágio 3 (C).

Fonte: <http://anatpat.unicamp.br/indexalfa.html>

O aspecto mais relevante, para além do problema de concordância diagnóstica, é que se deve buscar a melhor caracterização da CAM para definir o risco de desfecho adverso. Para tanto, é essencial considerar dois aspectos: a interrupção do processo pelo parto e o seu caráter espectral.

Considerando que o parto e o secundamento interrompem o processo inflamatório em um dado momento do seu curso temporal e topográfico, é o momento variável desta interrupção que determina que momento (estágio) se verá em cada caso. Análise de grandes séries mostram que a maioria das CAM são vistas no estágio 2 (corionite), indicando que pode haver uma demora para atingir o âmnio, talvez mais difícil de penetrar pelos leucócitos, ou que nem todos os quimiotáticos são igualmente potentes^{PARK 2009}. Seja como for, naturalmente, há uma distinção entre os

estágios maternos 2 (corionite) e 3 (corioamnionite)^{PARK 2009, LEE 2004}, com o maior estágio claramente associado com maior risco de FIR e morbidade e mortalidade perinatais e, naturalmente, FIR implicando ainda maior risco^{KIM 2001, PARK 2009}. Estas observações têm implicação clínica porque permitem vincular a severidade da CAM com o risco de envolvimento, morbidade e mortalidade fetais^{PARK 2009}.

Outro aspecto importante a ressaltar na inflamação CAM, comum a muitos outros processos patológicos, é seu caráter espectral, podendo-se distinguir fases clínica e subclínica, sítios anatômicos diferentes, diferentes origens da resposta inflamatória, intensidade, etc. É um erro, portanto, inferir das evidências proporcionadas por determinado método que não há CAM. A ausência de fatores de risco e manifestações clínicas, a cultura do líquido amniótico ou a histopatologia negativas não exclui infecção. Muitas infecções são subclínicas, a cultura pode ser pouco sensível e a infecção pode não ter ainda produzido quimiotáticos suficientes para determinar um exsudato reconhecível à microscopia. Há, portanto, uma janela de tempo na qual apenas a “assinatura molecular da inflamação” está presente^{ROMERO 2007}.

Este caráter espectral da infecção amniótica e da CAM não deveria ser um problema porque os processos biológicos são inerentemente espectrais. O que é imperativo é definir em qual momento (fase ou estágio) da história natural do processo patológico é melhor a relação custo-benefício para basear o diagnóstico e a intervenção médica. Essa decisão extrapola, muito, a miopia atual da chamada “biologia molecular” com sua pretensão de diagnosticar tudo. As evidências atuais indicam que a CAM histológica é este estágio porque se correlaciona melhor com os desfechos reprodutivos adversos que se quer evitar.

1.3.3- Fisiopatologia

Infecção amniótica e CAM associam-se com efeitos sobre a gestante e a fisiologia normal da gestação, parto e nascimento, cujas consequências podem se estender à vida pós-natal.

1.3.3.1- Efeitos sobre a gestante

Os efeitos da infecção amniótica sobre a gestante são a disseminação da infecção anexial para os tecidos uterinos e adjacentes, incluindo a endometriíte puerperal, a infecção das feridas da histerotomia e da episiotomia e a sepsia materna^{BERGSTRÖM 2003}.

1.3.3.2- Efeitos sobre a gestação e o parto

Os efeitos mais importantes da infecção amniótica sobre a gestação e o parto são a indução ou aceleração da parturição, a rotura das membranas fetais e o nascimento pretermo.

Parturição é o processo fisiológico para expulsar o concepto, caracterizado por contrações uterinas, dilatação cervical, rotura das membranas e expulsão do concepto. A necessidade de conhecer os fatores e mecanismos que determinam a parturição precoce e o nascimento pretermo é um dos maiores e mais urgentes desafios da obstetrícia moderna^{DIGIULIO 2008, MASS 1999, MENON 2007, ROMERO 2006}.

Na verdade, há evidências que mediadores inflamatórios locais e sistêmicos, imunes e não imunes, parecem pôr em ação mecanismos relacionados com as “grandes síndromes obstétricas” como o aborto, nascimento pretermo, PROM e PPRM e a DHEG^{ROMERO 2007}, que seriam explicadas não somente pela presença da inflamação, como também pela diversidade da magnitude destes mecanismos atribuída a fatores genéticos e epigenéticos^{GOLDMAN 2008}.

A CAM pode iniciar ou potenciar a parturição, com ou sem rotura das membranas, e assim determinar o nascimento no termo ou no pretermo. A parturição é complexa, mas já se conhece alguns dos seus mecanismos patogénéticos e moleculares^{ROMERO 2006, JESSOP 2011}. Um destes mecanismos é a facilitação da rotura pelo enfraquecimento do cório e do âmnio decorrente da digestão enzimática, sobretudo do colágeno, feita pelas enzimas metaloproteases dos leucócitos ou ativação de enzimas locais.

Iniciada a parturição, segue-se, inevitavelmente, o parto, a termo ou no pretermo; poucos recursos terapêuticos são eficazes para postergar o parto. Naturalmente, os desfechos ruins são mais comuns no pretermo. Mas seriam estes desfechos

determinados pela prematuridade, pela infecção/inflamação ou por ambos? A resposta tradicional é que são determinados por ambos, mas, recentemente, análises de grandes séries de casos têm revelado que a prematuridade é mais importante que a infecção^{LEDGER 2008, GOLDMAN 2008}. Isso significa que, como causa de nascimento pretermo, a CAM é mais importante do que como causa de infecção fetal.

Em resumo, as evidências que suportam a atribuição de parto pretermo à resposta inflamatória do hospedeiro são:

1. A injeção experimental na cavidade amniótica de microrganismos ou de seus produtos em animais prenhes resultam em parturição e nascimento pretermo;
2. Infecções maternas extrauterinas, como a pielonefrite, associam-se com parturição pretermo;
3. CAM, mesmo subclínica, associa-se com parturição e nascimento pretermo;
4. Antibioticoterapia em animais com infecção amniótica experimental previnem nascimento pretermo;
5. Antibioticoterapia de bacteriúria assintomática em humanos previne nascimento pretermo^{ROMERO 2006 e 2007}.

A infecção amniótica, portanto, parece ser o iniciador do processo e a CAM seu mecanismo efetor^{MENON2007}. Naturalmente, tudo isso não ocorre fora de contexto. Vários fatores contribuem através de múltiplas e multifacetadas etapas, merecendo destaque como promotores as infecções cérvico-vaginais (vaginose bacteriana, tricomoníase, gonorréia, clamidiose, candidíase, entre outras), fatores comportamentais (fumo, abuso de substâncias, estado nutricional e coito), obstétricos (gestação múltipla, polidramnia, incompetência istmo-cervical, traumas sobre a cérvix, entre outros) e ambientais (deficiência de zinco). Também fatores fetais, sobretudo uma possível diversidade da magnitude da resposta inflamatória atribuível a fatores genéticos e epigenéticos como aventado para o feto^{VARLI 2013}.

Considerando a importância da infecção e inflamação no determinismo de problemas reprodutivos^{HOLZMAN 2007}, por que nem sempre elas têm consequências adversas? Por três razões: primeiro, nem toda CAM é igual, há casos mais e menos extensos e intensos e, correspondentemente, mais ou menos consequências;

segundo: porque, pelo próprio determinismo do parto ou pela intervenção obstétrica o parto é ultimado e o feto nasce, escapando do ambiente contaminado, o que tem sido denominado resgate pelo nascimento^{BLACKWELL et. al. 2003, VARLI 2013}; terceiro, porque os efeitos variam com a IG: infecção e CAM menos graves talvez bastem para iniciar ou potenciar o trabalho de parto no termo enquanto infecção e CAM mais graves sejam necessárias para o mesmo efeito em gestações pretermo^{WILLIAMS 2000}.

Um último aspecto a considerar é a relação temporal entre infecção, CAM e rotura das membranas fetais. Embora CAM não seja o único, é o mais frequente determinante de rotura das membranas, sobretudo de PPRM, significando que a inflamação precede a rotura, ainda limitada às membranas dependentes. Entretanto, ocorrida a rotura, por qualquer causa, segue-se infecção e CAM^{MENON 2007}.

1.3.3.3- Efeitos sobre o feto

Embora tipicamente uma resposta local, a inflamação pode ter repercussões sistêmicas como febre, taquicardia, hiperventilação, leucocitose e muitas outras, decorrentes dos mediadores inflamatórios produzidos localmente e distribuídos sistemicamente, sobressaindo o papel da interleucina 6^{ROMERO 2007}. Recentemente, o conjunto destas repercussões sistêmicas foram denominadas, pelo Colégio Americano de Pneumologia e a Sociedade de Medicina Intensiva¹⁹⁹², “síndrome da resposta inflamatória sistêmica” (SIRS) no adulto e “síndrome da resposta inflamatória fetal” (FIRS) no feto^{ROMERO 2007}.

FIRS foi originalmente descrita em gestações complicadas por trabalho de parto pretermo e PPRM associadas com maior morbidade neonatal^{LEE 2007}. Esta condição foi atribuída à infecção amniótica porque tanto os microrganismos como os seus produtos no líquido amniótico podem alcançar o feto através da pele, meato auditivo, vias digestivas e aéreas e determinar inflamações locais e seus efeitos sistêmicos^{LEE 2007}. Na verdade, agressões não infecciosas como necrose e trombose também podem desencadear quadro semelhante^{LEE 2007}.

FIR, portanto, não significa sempre infecção fetal, mas uma resposta sistêmica a produtos locais da inflamação, sejam ou não de causa infecciosa^{ANDREWS 2006}. De

fato, um estudo evidenciou infecção fetal apenas na metade dos neonatos com FIRS^{ANDREWS 2006}. O aspecto mais relevante destes achados é que mesmo infecções e CAM limitadas ao corioâmnio têm potencial lesivo para o feto. Isso significa que, mesmo sem infecção fetal, a resposta materna na CAM - a primeira resposta à infecção amniótica, ao liberar mediadores inflamatórios, tem potencial para induzir FIR.

No contexto desta inovadora ênfase na origem da resposta à infecção amniótica, ganha importância a classificação morfológica da CAM: qualquer CAM significa resposta inflamatória materna, mas CAM com resposta fetal significa CAM mais grave ou mais antiga. E o diagnóstico é fácil: exsudato na decídua, córion e âmnio significam resposta materna e exsudato nos vasos alantocoriais ou umbilicais significam resposta fetal à infecção amniótica. O único problema é que exsudato no córion e âmnio placentário pode ser tanto de origem materna como fetal, o que se comprova pela frequente associação entre CAM estágio 2 ou 3 na placenta e FIR e desfecho perinatal ruim, mesmo sem vasculite alantocorial ou umbilical^{JESSOP 2011}.

Ainda assim, com esta dificuldade, as evidências suportam a atribuição de maior risco a qualquer CAM estágio 2 ou 3 na placenta, ainda maior se há vasculite fetal^{JESSOP 2011, KIM 2001} e máxima se há arterite umbilical^{KIM 2001}.

Em termos práticos, este conhecimento significa que o risco da infecção amniótica pode ser conhecido e quantificado pela classificação da CAM. Mesmo estágios precoces de CAM histológica comportam risco, mas o risco aumenta com a extensão da CAM.

Adicionalmente ao aumento da morbidade perinatal^{LEE 2007, LEDGER 2008, SEONG 2008, WU 2003}, evidências recentes indicam uma associação entre infecção amniótica e CAM com várias doenças e condições específicas^{REDLINE 2003}, incluindo:

- **Disfunção de múltiplos órgãos.** Vários órgãos fetais, como adrenais, coração, cérebro, pulmões, pele e sistema hematopoiético são mais afetados na FIRS, revelando um quadro geral de estresse com hipercortisolemia, podendo determinar choque e óbito^{ROMERO 2007}.

- **Reação leucemóide neonatal** (leucocitose acima de 40000/mm³). Uma manifestação da FIR que é mais comum nos PROM, pretermos de baixo peso ao nascer e parece mediar a displasia broncopulmonar^{ZANARDO 2006}.
- **Displasia bronco-pulmonar**^{LEE 2007, LEDGER 2008, WU 2003, REDLINE 2003}.
- **Paralisia cerebral**. A paralisia cerebral, um grupo de síndromes com disfunção motora não-progressiva decorrente de lesão cerebral durante o desenvolvimento, ocorre em cada 1 a 2,4 por 1000 nascidos vivos, tanto no pretermo como no termo^{WU 2003}. Historicamente atribuída à hipóxia periparto, evidências recentes têm revelado associação com a CAM^{LEE 2007, LEDGER 2008, WU 2003}. Embora a patogênese seja complexa e pouco compreendida^{WU 2003}, as evidências sugerem que os danos neurológicos resultem de anoxia, aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica e lesão direta sobre neurônios e oligodendrócitos mediados por produtos bacterianos, mediadores inflamatórios e substâncias geradas pela FIR^{DAMMANN & LEVITON 2000, GREYER & NELSON 1997, REDLINE 2003, ROMERO 2007, SEONG 2008}.
- **Restrição de crescimento fetal**. Uma possível associação entre corioamnionite e restrição de crescimento fetal tem sido sugerida em vários estudos^{WILLIAMS 2000, BEEBE et. al. 1996, HEDIGER et. al. 1995}, mas contestada por outros^{KOVALOVSKI 1987}. Este efeito poderia ser mediado pela ação da endotelina e outros mediadores vasoconstritores sobre a vasculatura placentária, especialmente nas CAM menos intensas que não determinariam parturição ou pode ser que a restrição de crescimento por outra causa determine redução da função imune e esta a infecção placentária^{WILLIAMS 2000}.

1.3.4- Epidemiologia

Numerosos estudos relatam a prevalência de infecção amniótica e de CAM, apontando estas como determinantes de pelo menos 25 a 50% dos problemas PROM, PPRM e nascimento pretermo, proporção que aumenta à medida que a IG diminui^{ANDREWS 2006, WILLIAMS 2000, MENON 2007}.

Diante de tão numerosos estudos, paradoxalmente, é difícil resumir a prevalência de CAM no conjunto de partos devido à quase universal ênfase clínica nos casos mais

graves, mais precoces (pretermo), aos nativos ou aos natimortos, sem mencionar o emprego de variados métodos diagnósticos. Por estas razões, comparáveis com o presente estudo em termos de amostra de corte transversal de partos do III trimestre e mesmo método diagnóstico, há os seguintes relatos de prevalência:

- Merçon de Vargas¹⁹⁹² em 962 placentas do HUCAM, 38%;
- Batistuta Novaes²⁰⁰³ em 462 placentas do HUCAM e da Promatre de Vitória, ES, 29,4%;
- Batistuta Novaes²⁰⁰⁰ em 13,9% dos partos de uma clínica privada que atende gestantes de classes média e alta, em Vitória, ES, 13,9%;
- Fox & Langley¹⁹⁷¹ em 1000 dos partos de hospital universitário de Manchester, Inglaterra, 24,4%;
- Naeye & Petters¹⁹⁷⁸ em dezenas de milhares de partos de 12 hospitais de várias regiões dos EUA, de várias classes sócio-econômicas, predominantemente baixa e média, 56,2%.

1.4- Diagnóstico de infecção amniótica e de corioamnionite

1.4.1- Diagnóstico clínico e por métodos complementares

Infecção amniótica e CAM podem ser diagnosticadas por vários métodos (figura 10).

Diagnóstico clínico. A infecção amniótica e a CAM associam-se com manifestações clínicas reconhecidas há muito tempo. Febre, taquicardia, aumento da consistência uterina, fluxo vaginal purulento ou abundante, mau odor do líquido amniótico, leucocitose materna e taquicardia fetal são considerados marcadores e empregados para o diagnóstico de CAM clínica^{JESSOP 2011}.

A combinação de atributos mais sensível para o diagnóstico é a existência de febre associada a pelo menos dois dos seguintes atributos: mau odor do fluxo vaginal, leucocitose materna (≥ 15000), taquicardia materna (>100 batimentos/minuto) e taquicardia fetal (>160 batimentos/minuto)^{DIGIULIO 2008, MASS 1999, MENON 2007, KIM 2001}. Entretanto, esta e outras combinações de atributos têm pequeno valor para o

diagnóstico de CAM histológica^{BATISTUTA NOVAES 2003}, de modo que muitos casos são subclínicos, isto é, permanecem clinicamente ocultos^{JESSOP 2011}.

Diagnóstico microbiológico. Idealmente, o diagnóstico deveria ser firmado pela demonstração do microrganismo no sítio da infecção, o líquido amniótico, mas a cultura tem baixa sensibilidade, como já mencionado.

Diagnóstico citopatológico em amostra do líquido amniótico tem pouca sensibilidade devido ao fato do exsudato estar diluído em grande quantidade de líquido. Obter espécimes sem acrescentar maior risco pode ser feito nas cesarianas ou após o parto e ajudar no manejo clínico neonatal, mas, neste momento, já pouco pode ajudar no manejo clínico obstétrico. Ademais, após o parto vaginal, não se pode garantir que os anexos não tenham sido contaminados durante a passagem pelo canal do parto.

Diagnóstico bioquímico de produtos bacterianos e de mediadores inflamatórios tem sido empregado em estudos, mas não lograram uso clínico rotineiro^{MENON 2007}. Recentemente, métodos moleculares têm sido empregados para identificar DNA ribossomal bacteriano, revelando-se extremamente sensíveis, o que os torna uma promessa quando puderem ser disponibilizados para uso clínico rotineiro.

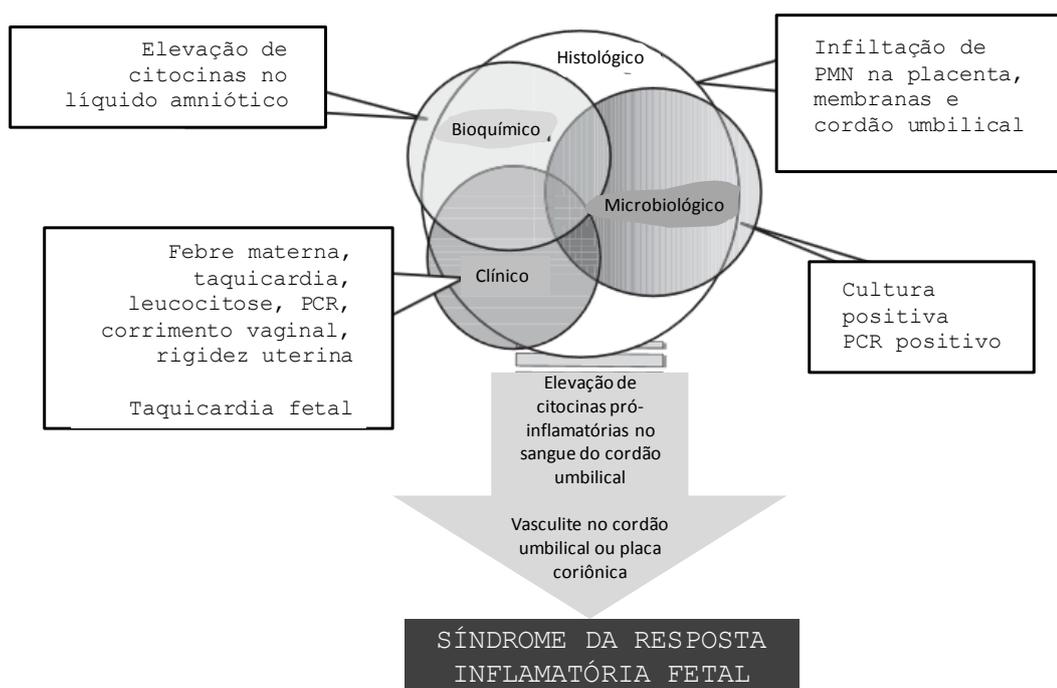


Figura 10 - Métodos diagnósticos de infecção amniótica
Fonte: THOMAS 2011

Os problemas de todos estes métodos, pouca sensibilidade de alguns, necessidade de obter espécimes através de punção da cavidade amniótica, demanda de laboratório especializado e alto custo, têm obstado sua aplicação clínica. A necessidade de obter amostra por aspiração de líquido amniótico, um método que comporta riscos para a mãe e para o feto e requer demonstração de boa relação custo-benefício para ser justificado eticamente, dificilmente poderá ser aplicado a todas as pacientes em todas as maternidades. E necessariamente, teria que ser aplicado a todas as parturientes, devido à alta prevalência e ao caráter subclínico da maioria das CAM. Não há, portanto, método eficaz, de baixo custo e passível de realização antes do parto, constituindo este um problema clínico de difícil solução.

1.4.2- Diagnóstico anatomopatológico

Devido aos problemas com os outros métodos acima descritos, cumpre recorrer ao diagnóstico anatomopatológico de CAM, considerado ainda hoje o padrão-ouro para o diagnóstico de CAM e de infecção amniótica^{ANDREWS 2006, JESSOP 2011, VARLI 2013}.

A macroscopia dos anexos fetais, procedimento de baixo custo que pode ser realizado na sala de parto, tem sensibilidade inaceitavelmente baixa^{MERÇON DE VARGAS 1995} e nunca foi sequer proposta para emprego rotineiro. Todavia, membranas fetais opalescentes e espessamento vascular e perivascular da geléia de Wharton, embora pouco sensíveis, são patognomônicos, têm boa especificidade, devendo o obstetra não deixar de atentar para estes achados^{MERÇON DE VARGAS 1995} (figura 11).

Histopatologicamente, o diagnóstico de CAM é rápido e reprodutível. Mesmo pequenas coleções de neutrófilos no cório ou âmnio devem ser aceitas como evidência de inflamação^{KIM 1998, BLANC 1959, ANDREWS 2006, DIGIULIO 2008, LEE 2007, MENON 2007, SEONG 2008} *inter alia*, ^{KIM 1998} e Fox e Langley¹⁹⁷¹ dizem que o diagnóstico deve ser estabelecido mesmo na presença de algum, isto é, pelo menos um PMN neutrófilo no cório ou âmnio.

Tamanha vantagem tem um preço: o método exige os recursos de um laboratório de Anatomia Patológica, patologista especializado e demanda pelo menos 24 horas de processamento histológico. Esse tempo mínimo dificilmente pode ser satisfeito pela

maioria dos laboratórios brasileiros porque a péssima remuneração dos procedimentos inviabiliza o investimento em recursos materiais e humanos necessários. No HUCAM, sequer se pode incluir o exame deste espécime nas rotinas de biópsia.



Figura 11 - Fotomacrografia da placenta com CAM macroscópica

Fonte: UFES / CCS / DP / PRMV

Em resumo, o diagnóstico histopatológico rotineiro, como é praticado usualmente, é o padrão-ouro, mas só pode ser realizado após o parto e demanda muito tempo para fornecer o resultado, razão pela qual não tem sido empregado rotineiramente em nenhum lugar que seja do nosso conhecimento. O exame é feito em muitos casos, mas sua contribuição *post factum* o torna inútil para o manejo clínico, servindo apenas para o aprendizado ou explicação de desfecho ruim.

Persiste, portanto, a busca por alternativas não invasivas ou pouco invasivas que permitam o diagnóstico de infecção amniótica e CAM, a tempo de orientar o manejo obstétrico e neonatal^{JESSOP 2011, BRUCH 1994}.

1.5- Exame Extemporâneo dos Anexos Fetais

Curiosamente, desde 1953^{BLANC 1953 e 1959} existe a proposta de um método para diagnóstico de CAM imediatamente após o parto, a tempo pelo menos de ajudar o manejo obstétrico da puérpera e neonatal do recém-nato. Trata-se do exame microscópico de espécimes do âmnio e/ou do cório para diagnósticos bacteriológico e citopatológico de infecção e de CAM (figura 12).

O *rationale* deste exame é determinar a existência de bactérias e leucócitos na superfície do epitélio amniótico e nas camadas esponjosa (antigo celoma extra-embrionário), reticular ou celular do cório^{BOURNE 1962, BENIRSCHKE, KAUFMANN E BAERGEN 2006}.

A existência de bactérias no epitélio amniótico, em que pese a possibilidade de contaminação durante a passagem pelo canal do parto nos partos vaginais, constitui marcador de infecção amniótica. A existência de leucócitos PMN neutrófilos no cório, que normalmente não contém nenhum destes leucócitos, constitui marcador inequívoco dos estágios 2 e 3 da CAM^{BLANC 1959}.

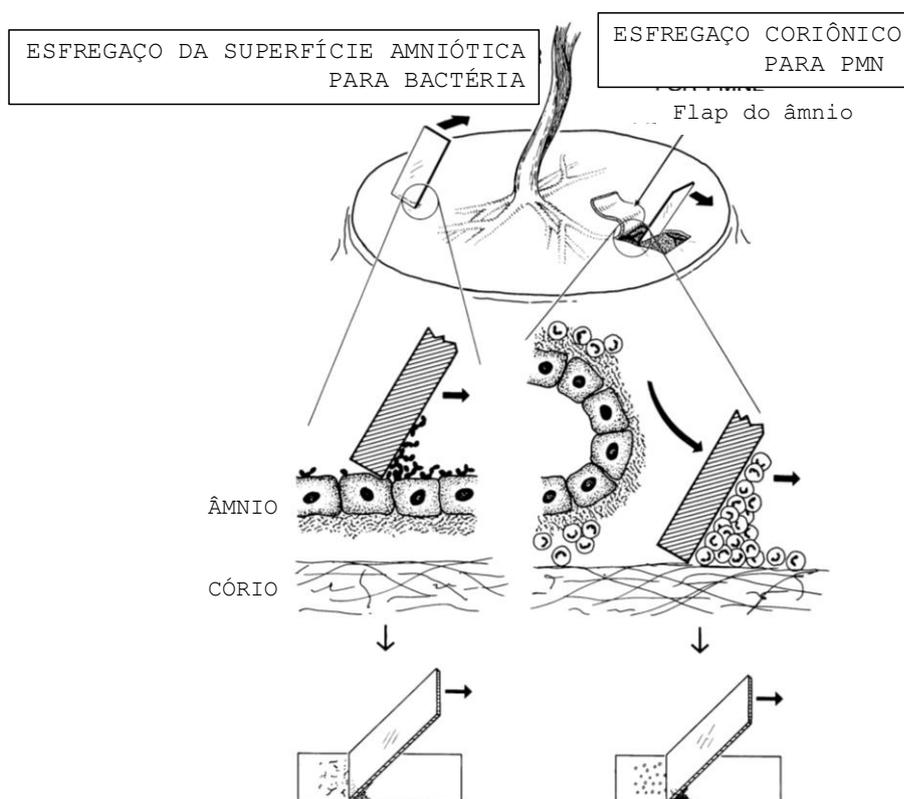


Figura 12 - Método de coleta de espécime para exame extemporâneo do âmnio e do cório placentário, segundo o proposto por Blanc (1953)

Fonte: Blanc WA: Pathology of the placenta, membranes, and umbilical cord in bacterial, fungal, and viral infections in man. In Naeye R, Kissane J, Kaufman N: Perinatal Diseases. Baltimore, Williams & Wilkins, 1981, p 71.

Evidentemente, como amostra do CP, o método não pretende diagnosticar todas as CAM, especificamente as CAM precoces (estágio 1, intervilosite subcorial e coriodeciduite das MEP), nem a CAM limitada às membranas dependentes. Também, nos casos de CAM estágios 2 e 3 e grau 1, pode ser que o método não seja tão bom devido à escassez do exsudato.

A maior vantagem está em fornecer resultado rápido, em minutos, das formas potencialmente mais graves de CAM, auxiliando o obstetra e o neonatologista a estabelecer o diagnóstico e instituir precocemente a terapia adequada para prevenir/tratar as infecções neonatais transorificiais, como a pneumonia e a septicemia e seus graves efeitos deletérios, em especial as lesões encefálicas^{REDLINE} 2000, 2005 e 2006.

Ademais, o exame pode revelar também pigmentação meconial dos macrófagos amnióticos e coriais, marcador de estresse fetal, cujo valor diagnóstico depende do contexto do caso.

Urgente e extemporâneo. O procedimento pode ser realizado após o parto, com ou sem urgência. Será urgente se o resultado for requerido clinicamente para fornecer diagnóstico de CAM com a finalidade de orientar a conduta clínica, à semelhança do que ocorre no exame per-operatório (exame de congelação). Sem urgência, pode ser realizado a qualquer momento, quando se deseja o mesmo diagnóstico, mas sem a pretensão de emprego para definir conduta imediata. A designação extemporânea, tomada de Kerisit et. al.¹⁹⁸¹, constitui apenas o reconhecimento que pode ser realizado em qualquer momento distinto daquele da histopatologia convencional, prestando-se, inclusive, para diagnosticar CAM em caráter de urgência, imediatamente após a solicitação.

Na revisão das publicações sobre diagnóstico de CAM, encontramos poucos relatos de emprego clínico rotineiro do exame extemporâneo do âmnio, cório ou cordão umbilical.

Um dos artigos, Sarrut¹⁹⁷⁴, escrito em francês, não foi possível obter.

Benirschke & Clifford¹⁹⁵⁹ descreveram o método de exame por congelação do cordão umbilical e o acharam acurado.

Kerisit et. al.¹⁹⁸¹ examinaram cortes em criostato (exame por congelação) de 184 cordões umbilicais de pretermos e encontraram 14,7% de inflamação funicular com boa correlação com infecção fetal (81,5%) e propuseram este método rápido e confiável para diagnóstico de infecção no período neonatal imediato.

Nessmann-Emmanuelli et. al.¹⁹⁸³ empregou este método em duas séries de 2514 e 400 casos consecutivos selecionados dentre 15377 partos para diagnosticar infecção amniótica por bacterioscopia e cultura de espécime da superfície do âmnio placentário. Concluíram que se trata de teste rápido e confiável, fornecendo resultado em cerca de 30 minutos, a tempo de ser utilizado clinicamente. No conjunto dos casos, observou VP+ de 80% e VP- de 98%, ambos chegando a 100% nos casos em que as gestantes não receberam terapia antibacteriana antes do parto.

BRUCH et. al.¹⁹⁹⁴ avaliaram o valor diagnóstico do que chamaram *chorioamniotic plate smears* comparativamente com a HP convencional e a cultura em 300 casos incluindo pretermos (13 a 27spm), nascidos a termo e natimortos (> 28spm). A coleta do âmnio da placenta e das MEP foi feita até 24 horas após o parto e os esfregaços corados pelo Gram e pela violeta de cresila. Para o diagnóstico de CAM, encontraram sensibilidade 54,8%, especificidade 79,5%, VP+ 62,4% e VP- 73,9% comparando com a HP, sendo estes valores um pouco melhores no termo que no pretermo, nos natimortos e nos abortos. O maior foco do estudo, entretanto, foi a comparação da bacterioscopia com a cultura do âmnio, concluindo que a primeira também é um bom e rápido método a ser empregado.

Valor diagnóstico do EECP. Baseado nos dados disponíveis, este procedimento tem grande especificidade e valor preditivo -se há corioamnionite pelo EECP, há infecção amniótica- mas persiste a dúvida quanto à sensibilidade e quanto a que faixa do espectro nosológico da CAM é diagnosticada pelo método. Ademais, ignoram-se outros índices de valor diagnóstico e os índices de acordo com a HP.

1.6- Justificativa

Este estudo justifica-se pela grande prevalência, dificuldades do diagnóstico clínico e consequente subdiagnóstico e pelas graves morbidade e mortalidade materna e perinatal da CAM. O diagnóstico de CAM é essencial para orientar intervenções de acordo com o enfoque de risco e deve ser conhecido em nível local. O presente estudo pretende contribuir para este propósito através da padronização dos procedimentos e validação do EECP como método diagnóstico eficaz, rápido e de baixo custo, que pode ser realizado no puerpério e período neonatal imediatos, a tempo de orientar a intervenção médica.

2- OBJETIVOS

O objetivo deste estudo é determinar se o exame extemporâneo do cório placentário (EECP) pode ser empregado rotineiramente para o diagnóstico de corioamnionite (CAM), no puerpério imediato, a tempo de contribuir para o cuidado materno e neonatal.

Especificamente pretende-se:

1. Descrever os diferentes modos de obtenção e processamento do espécime do CP, avaliar sua representatividade e a exequibilidade do seu emprego como procedimento rotineiro extemporâneo (urgência) em laboratório de Anatomia Patológica;
2. Aferir os índices de concordância e a reprodutibilidade entre o EECP e a HP quanto ao diagnóstico de CAM;
3. Aferir os índices de valor diagnóstico do EECP para o diagnóstico de CAM em relação com a HP convencional (padrão-ouro);
4. Verificar se a concordância e valor diagnóstico do EECP variam com a prevalência, técnica de processamento, origem do exsudato, a extensão e o grau de CAM;
5. Aferir a ocorrência de CAM por HP em duas amostras de gestantes de Vitória, ES;
6. Verificar se a ocorrência de CAM aferida pelo EECP discrepa da aferida pela HP.

3– CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1- Delineamento do Estudo

Problema do estudo. Há pouco conhecimento, em nosso meio, sobre a prevalência de infecção amniótica, seus determinantes, valor dos métodos empregados no diagnóstico e suas consequências reprodutivas. Este conhecimento é necessário, em nível local, para o manejo obstétrico e a intervenção orientada para o enfoque de risco que possibilitem melhorar a saúde materna e perinatal.

O presente insere-se no contexto dos estudos do GEPR/UFES, especificamente em linha de pesquisa sobre infecção perinatal, dá continuidade e é correlato a estudos anteriores e em andamento^{MERÇON-DE-VARGAS 1992, BATISTUTA NOVAES 2003, SOUZA RIBEIRO 2006} (anexo 1).

Sujeitos e objeto de estudo. Os sujeitos deste estudo são as parturientes e seus filhos e os objetos os anexos fetais.

Tipo de estudo. Estudo descritivo e analítico em amostra complexa (amostras de corte transversal e duas séries consecutivas de casos - veja seções 3.2.1 e 3.5.1), retrospectivo, de avaliação de processo (diagnóstico)^{FEINSTEIN 1985}.

Período de estudo. O estudo foi realizado entre 2010 e 2012, com casos examinados entre 22 de fevereiro de 2008 e 31 de dezembro de 2012.

Local do estudo. Este estudo foi realizado no Serviço de Anatomia Patológica do HUCAM/UFES (SAP/HUCAM) e no Laboratório PAT-Anatomia Patológica.

Recursos. Os recursos humanos e materiais empregados neste estudo foram aqueles disponíveis para uso rotineiro no SP/HUCAM e no PAT-AP, uma vez que os procedimentos não implicaram aumento apreciável de material de consumo ou serviço. Recursos específicos para o estudo foram custeados pelo GEPR, pela mestranda e co-orientador. Nenhum financiamento externo foi buscado.

Variáveis do estudo. As variáveis estudadas são informações demográficas, clínicas, de exames complementares diagnósticos (ultrassonografia e Patologia Clínica) e anatomopatológicas extraídas das requisições médicas de exames anatomopatológicos (anexos fetais e necropsia), fornecidas pelos médicos requisitantes e pela família no momento do registro do procedimento no laboratório. Em alguns casos, informações adicionais foram colhidas em discussões de caso com os médicos assistentes (sessões clínico-patológicas), em consultas de aconselhamento reprodutivo com os pais e em consulta aos prontuários clínicos. Os dados morfológicos são aqueles usuais e rotineiramente incluídos nos laudos de anexos fetais.

Implicações éticas. O presente estudo caracteriza-se por: (1) empregar procedimentos da rotina de assistência médica prestada às gestantes e seus filhos, (2) não incluir intervenção com risco adicional para as parturientes ou seus filhos e (3) coleta de dados retrospectiva e limitada aos documentos institucionais.

A casuística original era constituída pelos casos do estudo “Doença periodontal, infecção cérvico-vaginal e infecção amniótica”, conduzido pelo Prof. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa como tese de doutorado no Instituto de Ciências Biomédicas da USP, São Paulo, SP, registrado e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFES e da USP, em 2007 (anexos 2.1 e 2.2). Para o presente estudo, foram incluídos mais casos do HUCAM e do PAT-AP.

Devido ao delineamento como estudo observacional retrospectivo, termo de consentimento não foi requerido, mas foi obtida autorização para acesso e uso de espécimes e documentos dos responsáveis legais (anexo 2.3). Em todos os casos examinados por solicitação clínica explícita dos médicos assistentes para diagnóstico de CAM (grupo HIB), o diagnóstico foi imediatamente informado ao médico obstetra e/ou neonatologista, com recomendação para registro no prontuário médico.

A confidencialidade e a privacidade dos sujeitos foram asseguradas nos arquivos informatizados, identificando cada caso apenas por registro alfanumérico. Os documentos originais (prontuários) permaneceram sempre sob a guarda da instituição. Todos os dados foram registrados na planilha de dados do estudo (sem

dados de identificação) que permanecem sob a guarda do pesquisador e do orientador. Os espécimes (reserva formolizada, blocos de parafina e lâminas) e os documentos foram registrados e estão arquivados nos laboratórios responsáveis por sua guarda.

3.2- Casuística

3.2.1- Procedência dos casos.

Os casos estudados são de parturientes atendidas em vários hospitais do Estado do Espírito Santo, com 22 ou mais semanas de gestação à terminação, cujos anexos fetais foram encaminhados para exame anatomopatológico em dois laboratórios de Patologia de Vitória, ES.

3.2.1.1 - Casos do SAP/HUCAM.

O HUCAM é um hospital público terciário, referência regional para casos de alto risco obstétrico para pacientes do SUS, com cerca de 250 leitos (29 de obstetrícia e 24 de UTIN), que realiza cerca de 1500 partos anuais. No SAP/HUCAM são examinados, exclusivamente, os anexos fetais de parturientes da Maternidade do HUCAM.

Desde 1978, rotineiramente, os espécimes anexos fetais, produtos da concepção (abortos) e fetos de óbitos perinatais de todas as terminações, independentemente da IG, são encaminhados para exame anatomopatológico, acompanhados pelas respectivas requisições.

Na Maternidade, os anexos fetais são acondicionados em sacola plástica, sem formaldeído, identificada com o nome da mãe e a data da terminação escrita em etiqueta adesiva e colada na face externa da sacola. Esta sacola é fechada com nó ou com fita adesiva e conservada em geladeira a 7º C até o momento do transporte para o SAP/HUCAM.

No SAP/HUCAM, até 2011, os casos eram classificados quanto aos problemas clínicos descritos na requisição (anexo 3) e aqueles com indicação para exame eram registrados e fixados em formaldeído a 4% (formol a 10%). Os demais eram conservados sob refrigeração por uma semana e então, se não houvesse morte perinatal ou não fosse solicitado exame pelo neonatologista, eram descartados. Desde janeiro de 2011, todos os casos passaram a ser registrados e conservados em formaldeído, mas, devido à escassez de recursos humanos e materiais, apenas os casos com indicação clínica são processados.

Em fevereiro de 2008, diante da impossibilidade de realizar o exame anatomopatológico de todos os casos, implantou-se o exame extemporâneo (urgência) do cório placentário (EECP) para diagnóstico de CAM e informação imediata aos obstetras e neonatologistas.

Entre 22/02/08 e 31/12/12, dentre os anexos fetais registrados para exame no SAP/HUCAM, para o presente estudo foram selecionados casos de dois períodos:

- **Amostra de corte transversal** de 118 casos para estudo da relação entre doença periodontal e desfecho reprodutivo, incluídos na casuística da tese de doutorado do Prof. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa.
- Rotina de EECP em **casos requisitados por indicação clínica neonatal**, em que foram examinados 214 casos.

3.2.1.2 - Casos do PAT-AP

O Laboratório PAT – Anatomia Patológica (PAT-AP) é um laboratório privado com sede em Vitória, ES, que realiza exames para vários hospitais do Estado do Espírito Santo, onde, em sua maioria, são atendidos pacientes das classes média e alta, usuários de planos de saúde privados.

Os anexos fetais são encaminhados pelos obstetras por variadas indicações clínicas, seja como exame de triagem diagnóstica rotineira (alguns obstetras encaminham os anexos fetais de todos os casos), seja por alguma intercorrência médica, complicação gestacional ou desfecho reprodutivo ruim. Os procedimentos anatomopatológicos são idênticos aos empregados no HUCAM, todos os exames

são realizados pelo mesmo patologista (PRMV) e em todos é emitido um laudo macro e microscópico. Em 2008, o EECF foi implantado como etapa do procedimento rotineiro do exame de todos os anexos fetais.

Para o presente estudo, foram inicialmente selecionados todos os 1866 casos consecutivos examinados entre 01 de janeiro de 2010 e 31 de dezembro de 2012.

3.2.2- Seleção da amostra final

Dentre os 2452 casos inicialmente selecionados de ambos os laboratórios, foram excluídos:

1. Os **abortos**, casos com IG menor que 22 spm;
2. **As gestações múltiplas** devido à complexidade inerente à presença de dois conjuntos de anexos fetais, especialmente porque nem sempre há informação clínica disponível ou é possível identificar morfológicamente os anexos fetais situados mais inferiormente e, portanto, mais sujeitos à infecção amniótica;
3. **Os casos sem espécime do cório** por esquecimento, artefatos que impediam a coleta (dessecamento do espécime ou fusão âmnio-corial) ou extravio do espécime, documentos ou lâminas;
4. **Os casos sem diagnóstico histopatológico final**, correspondendo a casos recentes do PAT-AP que, até o encerramento da extração dos dados, não tinham, ainda, o laudo histopatológico final.

A amostra final selecionada compreendeu 1626 casos de gestações com 22 ou mais semanas, não gemelares, com dados e espécimes adequados para o estudo.

3.3- Métodos

3.3.1- Exame anatomopatológico convencional dos anexos fetais

Os procedimentos macro e microscópico do exame anatomopatológico rotineiro dos anexos fetais foram realizados, em ambos os laboratórios e em todos os casos dos grupos HCT e PIV, pessoalmente ou sob supervisão direta do co-orientador,

segundo protocolo sistemático e padronizado, inspirado em Benirschke¹⁹⁶¹, em uso desde 1978. Estes procedimentos rotineiros estão minuciosamente descritos em trabalhos anteriores^{MERÇON-DE-VARGAS1992, BATISTUTA NOVAES 2003}, razão pela qual apenas a amostra para exame microscópico necessita ser descrita.

Em ambos os laboratórios, nos casos HCT e PIV, a amostra para microscopia incluiu uma seção transversal do cordão umbilical próxima da implantação placentária, um enrolado das membranas extraplacentárias incluindo a borda de rotura, um fragmento de âmnio placentário, um fragmento paralelepipedal da placa corial incluindo vasos alantocoriais, vários fragmentos da placa basal, quatro fragmentos cilíndricos de 7mm de diâmetro amostrados vertical, aleatória, sistemática e uniformemente^{HOWARD & Reed 2005, MAYHEW 2008} da placenta e fragmentos adicionais se havia lesões macroscópicas. Todos os casos foram submetidos a processamento histológico rotineiro e corados pela hematoxilina e eosina.

Microscopia. O momento e os observadores variaram conforme o grupo do estudo. Os casos do grupo HIB não foram examinados histopatologicamente. **No grupo HCT**, a histopatologia foi realizada várias semanas após o parto, sem conhecimento dos dados clínicos e do resultado do EECP, empregando-se o microscópio Olympus de ensino do SAP/HUCAM, conjuntamente pela mestranda (então médica-residente em Patologia) e pelo co-orientador (PRMV), frequentemente acompanhado por outros residentes e estagiários do GEPR. **No grupo PIV**, de acordo com a rotina do PAT-AP, exceto nos raros casos com requisição para exame imediato, a coleta, processamento e microscopia do HP foram realizadas vários dias após o parto pelo co-orientador (PRMV), sem conhecimento dos informes clínicos, mas com conhecimento do resultado do EECP.

Crítérios para diagnóstico histopatológico de CAM. Os mesmos critérios foram empregados para o diagnóstico de CAM em todos os casos. CAM foi diagnosticada se havia algum (pelo menos um) PMN neutrófilo no corioâmnio de qualquer sítio do espécime do HP, anotando-se sua quantidade por CGA como: ausente, menos de 10 (grau 1), 10 a 30 (grau 2) e mais de 30 (grau 3), de acordo com a escala de Blanc¹⁹⁵⁹ para o estágio e a escala de Altshuler¹⁹⁹⁷ para o grau da corioamnionite (figuras 8 e 9).

3.3.2- Exame anatomopatológico extemporâneo do cório placentário (EECP)

O EECP consiste na macroscopia dirigida para identificar os atributos morfológicos de CAM, coleta de espécime do CP e seu exame microscópico.

Momento. Nos casos do presente estudo, o procedimento foi realizado tanto como parte (etapa) da rotina de exame dos anexos fetais, a fresco (casos HCT), após vários dias de fixação (casos PIV) e após o recebimento da requisição clínica do neonatologista (casos HIB), quando se procedeu a exame imediato, em caráter de urgência, para informação do médico requisitante.

Materiais utilizados. Para a obtenção de espécimes do CP são necessários um par de luvas de procedimentos, 1 pinça anatômica, 1 lâmina de bisturi, 2 a 3 lâminas de vidro, 1 frasco com etanol do tipo utilizado para coleta de espécime citopatológico e 35ml de etanol a 95%. Para a técnica de laminação com ciano-acrilato^{MERÇON-DE-VARGAS1995} é necessário também cola adesiva instantânea SuperBonder da 3M Brasil (figura 13)



Figura 13 - Materiais utilizados para coleta do espécime do cório placentário

Técnica da coleta. Inicialmente, identificou-se o pólo inferior do ovo, através do reconhecimento da menor distância entre a borda de rotura das MEP e a borda

placentária, marcando-o com uma incisão na borda placentária. A seguir, os anexos foram colocados sobre a bancada com a face fetal para cima, lavados com água corrente e a superfície fetal foi seca com pano de algodão limpo (figura 14).



Figura 14 - Identificação, marcação do pólo inferior e limpeza da placenta

Identifica-se o ponto de ruptura das membranas fetais (A) e marca-se com um corte a área referente a ele (B e C). Após, lava-se a superfície fetal da placenta com água corrente (D) e seca-a com pano limpo (E).

Para coleta de espécimes do cório placentário (placa corial) foi feita uma incisão no âmnio, evitando área desgarrada, seguida por seu descolamento por tração, que ocorre na camada esponjosa (antiga cavidade celomática). Grande cuidado foi

tomado para evitar a contaminação do cório com sangue ou células amnióticas (figura 15).

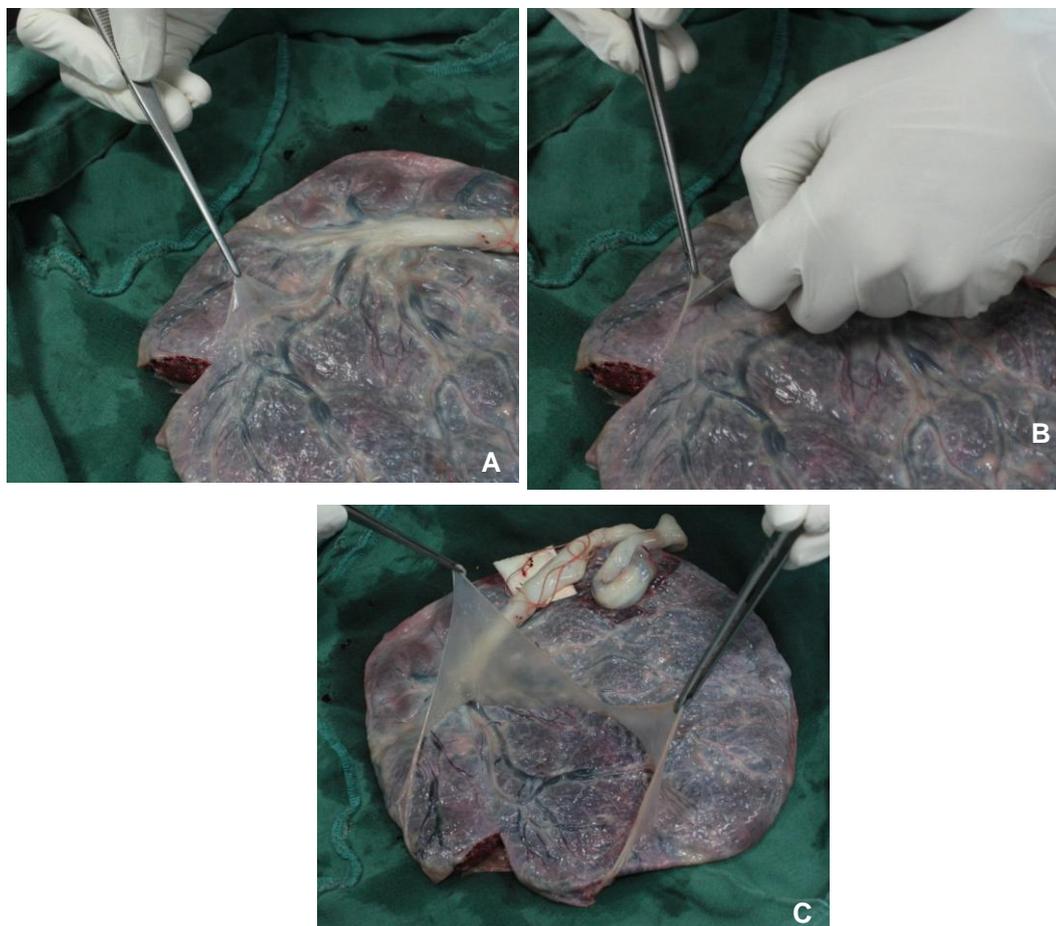


Figura 15 - Preparação para coleta do cório placentário

Pinçamento do âmnio (A) e posterior incisão do mesmo (B) seguido do seu descolamento e separação do cório, resultando na área a ser examinada (C).

A técnica de coleta variou conforme se pretendeu um espécime para exame citopatológico ou histopatológico.

Para obtenção de espécime para exame citopatológico, a superfície do cório foi raspada com lâmina de vidro, lâmina de bisturi ou espátula e distendida como esfregaço (figura 16) ou pela técnica de *squash*^{TAKAHASHI 1995} (figura 17), em uma ou mais lâminas histológicas, que são fixadas em etanol a 95%. Este método foi empregado em todos os casos do grupo HCT, em muitos casos do grupo HIB, mas em poucos casos do grupo PIV.

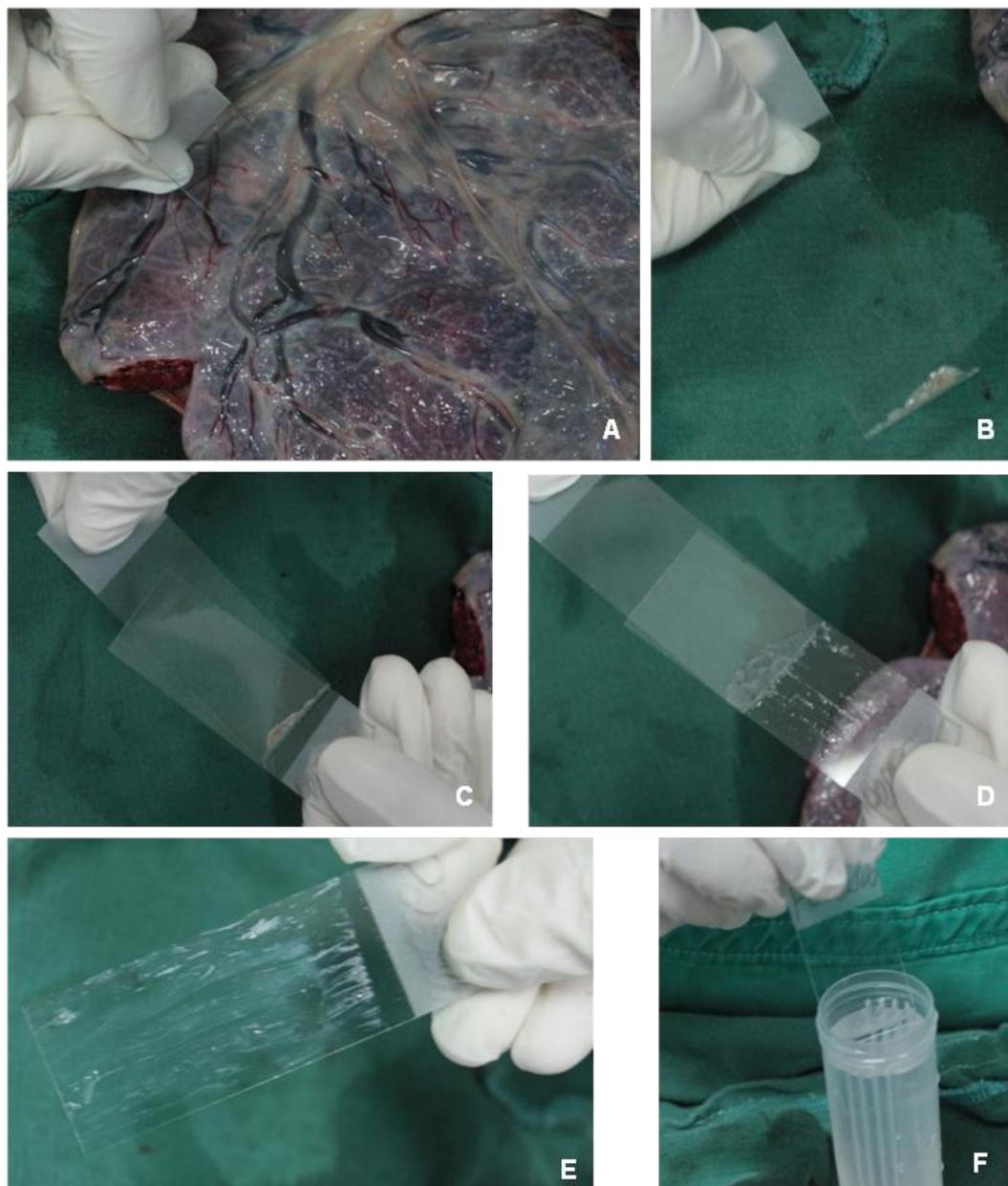


Figura 16 - Coleta do cório placentário segundo técnica do esfregaço

Material obtido por raspado com lâmina de vidro (A). Material coletado (B) com posterior distensão em lâmina histológica (C e D) resultando em um esfregaço do espécime coletado (E). Imersão da lâmina histológica com o espécime em solução de etanol a 95% para a fixação (F).

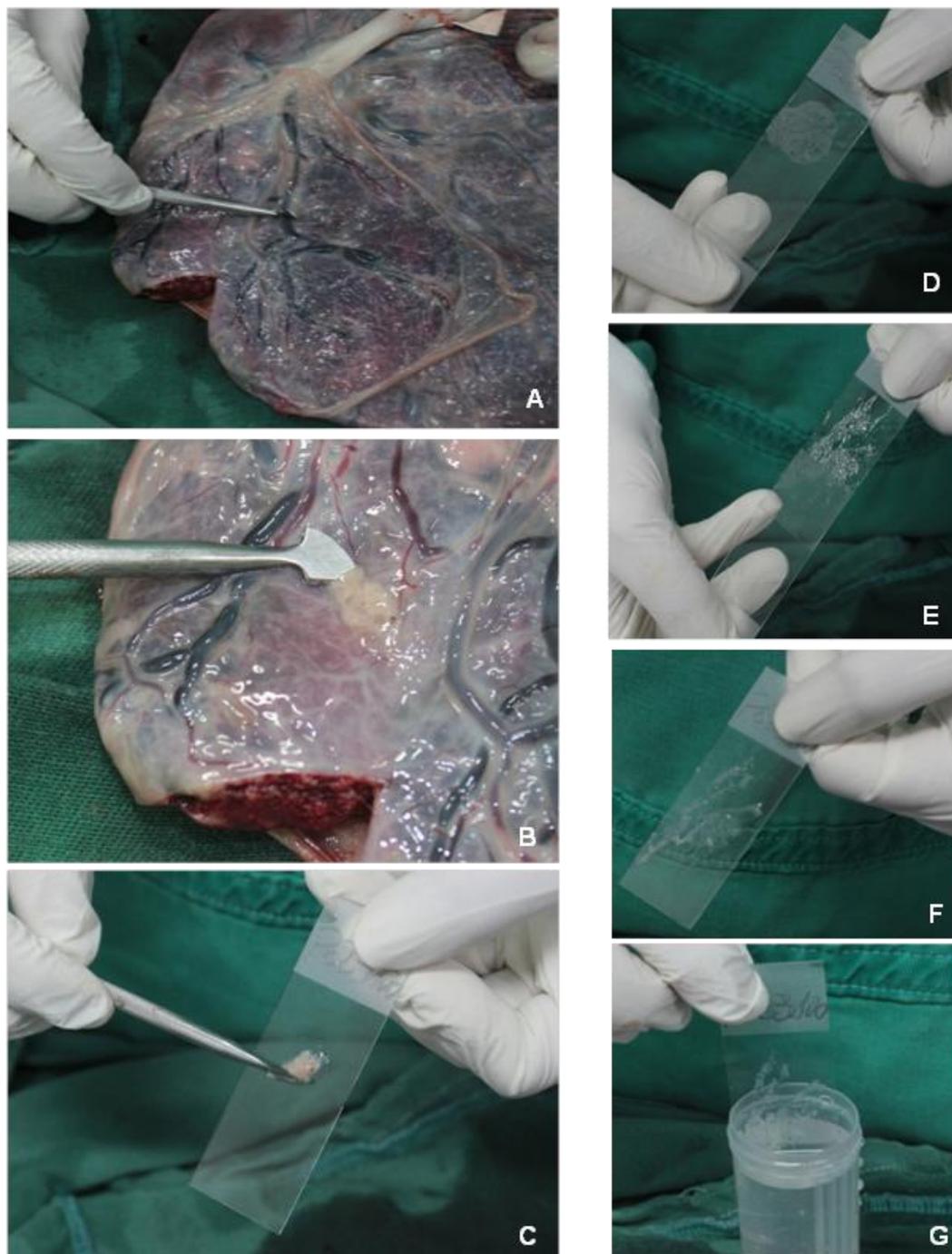


Figura 17 - Coleta do cório placentário segundo técnica do squash

Coleta do espécime utilizando espátula (A e B). O material é colocado na lâmina histológica (C) e comprimido e distendido com outra lâmina de vidro (D e E), resultando em uma camada delgada e espalhada do espécime coletado (F). Imersão da lâmina histológica com o espécime em solução de etanol a 95% para a fixação (G).

Para obtenção de espécime para exame histopatológico, empregou-se a laminação com ciano-acrilato^{MERÇON-DE-VARGAS 1995} (figura 18). Uma gota do adesivo foi posta na lâmina de vidro e esta aposta com pressão sobre a área escolhida do cório. Após cerca de 1 minuto, quando o adesivo já polimerizou, a lâmina é retirada com

movimento de rotação e ligeira elevação (menos de 30°) sobre o plano da placa corial. Uma placa fina de cório, contendo uma a três camadas de células permanece firmemente aderida à lâmina de vidro, que é imediatamente fixada em etanol a 95% para posterior coloração. Este método foi empregado na maioria dos casos dos grupos PIV e HIB, mas em nenhum caso do grupo HCT.

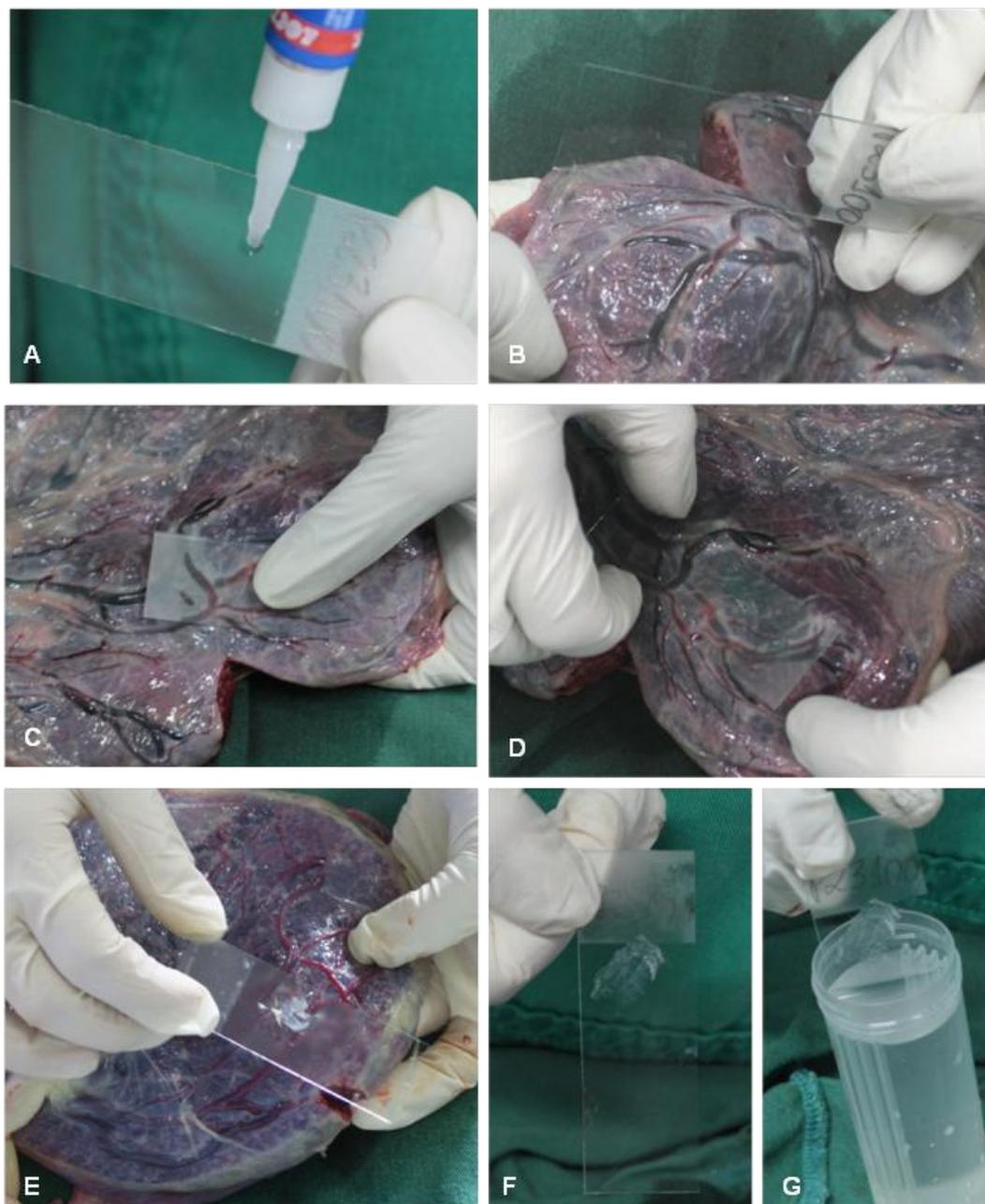


Figura 18 - Coleta do cório placentário segundo técnica do laminado

Uma gota da cola adesiva (ciano-acrilato) é depositada na lâmina histológica (A). Apõe-se esta lâmina na área escolhida, apertando-a contra a superfície durante cerca de um minuto (B e C). Com movimento rotatório e discreta sobrelevação, desgruda-se a lâmina da superfície placentária (D e E), resultando em um laminado (F). Imersão da lâmina histológica com o espécime em solução de etanol a 95% para a fixação (G).

Preparo pré-analítico do espécime do cório placentário. O espécime, esfregaço ou laminado, foi imediatamente fixado em etanol a 95% (pelo menos por 15 minutos) e encaminhado ao laboratório de técnica histológica para coloração. Como se trata de camada mais espessa que os cortes histológicos rotineiros (> 5 micrômetros), foi necessário aumentar o tempo e o número de banhos de etanol para garantir boa desidratação. Para a montagem, empregou-se algum dos meios usuais (Entellan®, resina acrílica Sherwin Williams ou verniz Acrilex), tendo-se o cuidado de não diluir demasiadamente o produto. Durante a montagem da lamínula, se havia alguma área espessa ou dobrada, ela foi desbastada para reduzir a irregularidade de espessura do laminado e evitar a formação de bolhas. Após a montagem, em alguns casos, foi necessário colocar um peso sobre a lamínula para aplanar e garantir que a lamínula ficasse paralela à lâmina.

Colorações. Esfregaços, *squash* e laminados foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina rotineira. Estas colorações foram escolhidas após testes preliminares com as colorações de Papanicolaou, May-Grunwald-Giemsa, azul de metileno, azul de toluidina, PAS e panótico (Diff-Quick Laborclin), que se revelaram inadequadas por corar excessivamente a abundante substância extracelular do cório e propiciar menor contraste entre o fundo e as células coriais.

Adequabilidade do espécime do CP. A adequação do espécime foi avaliada pela celularidade, considerando-se satisfatória (representando bem o cório) se havia mais de 10 células coriônicas por campo de grande aumento (CGA, 400X). Em espécimes com menos de 10 células coriais por CGA ou áreas espessas, procedeu-se a nova coleta.

Exame microscópico. Todos os exames microscópicos do CP foram realizados antes da histopatologia convencional. As lâminas foram examinadas com a objetiva de 100X (médio aumento) e todas as células com aparência de PMN neutrófilos foram re-examinadas com a objetiva de 400x (grande aumento) (figuras 19 a 23). O momento e os observadores variaram conforme o grupo do estudo.

No grupo HCT, a microscopia foi realizada várias semanas após o parto, sem conhecimento dos dados clínicos, empregando-se o microscópio Olympus de ensino do SAP/HUCAM, conjuntamente pela mestrandia (então médica-residente em

Patologia) e pelo patologista co-orientador (PRMV), frequentemente acompanhado por outros residentes e estagiários do GEPR.

No grupo HIB, todos os procedimentos do EECP foram realizados imediatamente após o recebimento da requisição de EECP, na maioria das vezes no mesmo dia ou no dia imediato ao parto, com conhecimento da suspeita de CAM. Empregou-se o mesmo microscópio Olympus de ensino do SAP/HUCAM e a microscopia foi feita conjuntamente pelo co-orientador (PRMV), médicos residentes (inclusive a mestranda) e estagiários do GEPR. O resultado foi comunicado imediatamente ao médico solicitante, por telefone.

No grupo PIV, de acordo com a rotina do PAT-AP, exceto nos raros casos com requisição para exame imediato, a coleta, processamento e microscopia do EECP foram realizadas vários dias após o parto pelo patologista (PRMV), sem conhecimento dos informes clínicos.

Crítérios diagnósticos de CAM. Os mesmos critérios, adaptados de Blanc¹⁹⁵⁹ e Altshuler¹⁹⁹⁷, foram empregados para o diagnóstico de CAM em todos os casos. CAM foi diagnosticada se havia algum (pelo menos um) PMN neutrófilo no espécime do CP. Anotando-se, nos grupos HIB e HCT, sua ausência ou presença e, no grupo PIV, sua quantidade por CGA como ausente, menos de 10 (grau 1), 10 a 30 (grau 2) e mais de 30 (grau 3).

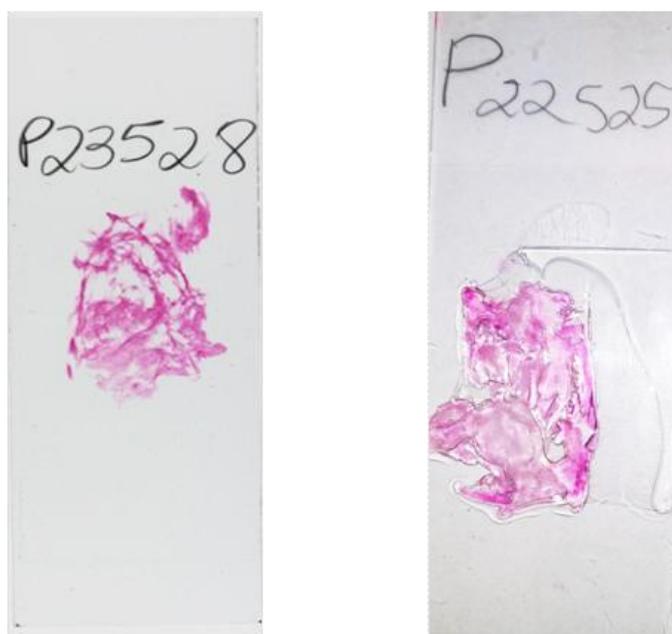


Figura 19 - Fotomacrografias do raspado e do laminado

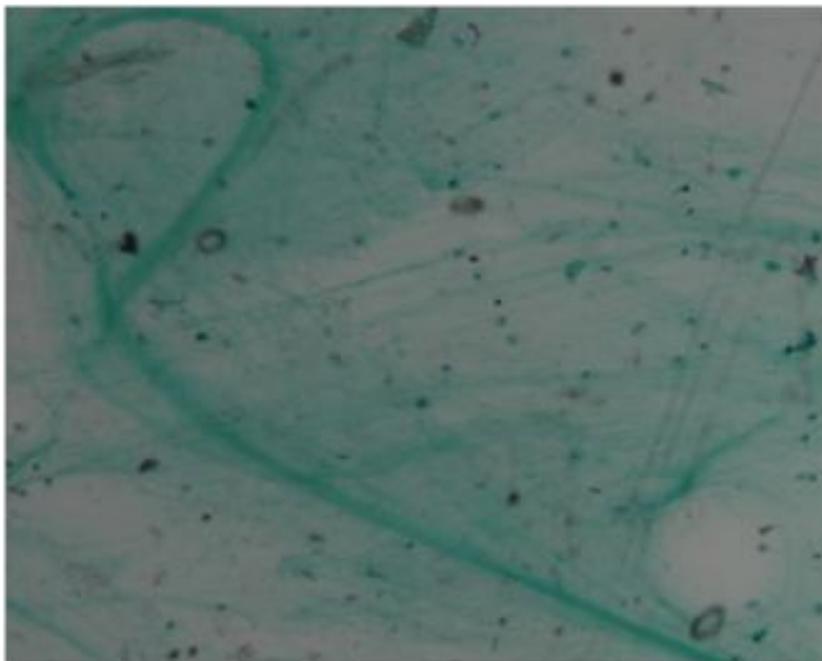


Figura 20 - Fotomicrografia do esfregaço do cório placentário
Visão geral do espécime exibindo células e matriz extracelular - Papanicolaou, 100x.

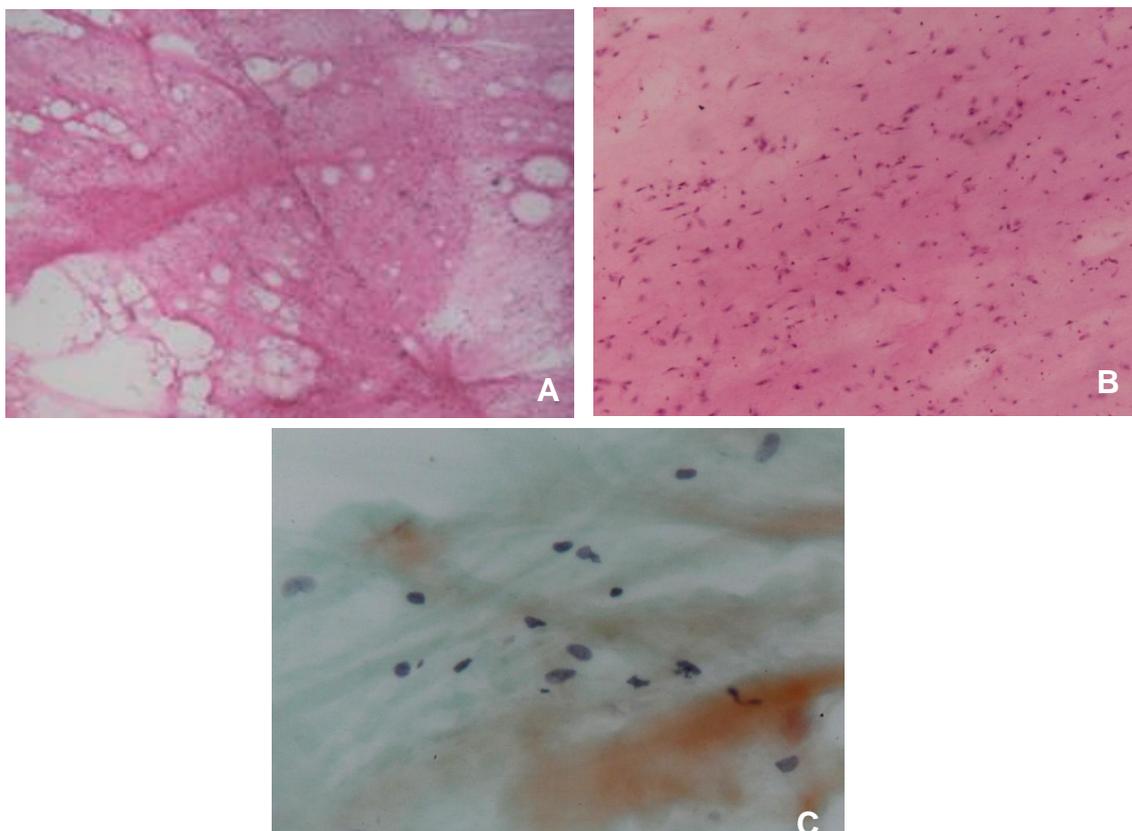


Figura 21 - Fotomicrografias do squash do cório placentário
Visão geral do espécime evidenciando células e matriz extracelular - H&E, 40x (A) e H&E, 100x (B).
Células mesenquimais do cório – Papanicolaou, 100x (C).

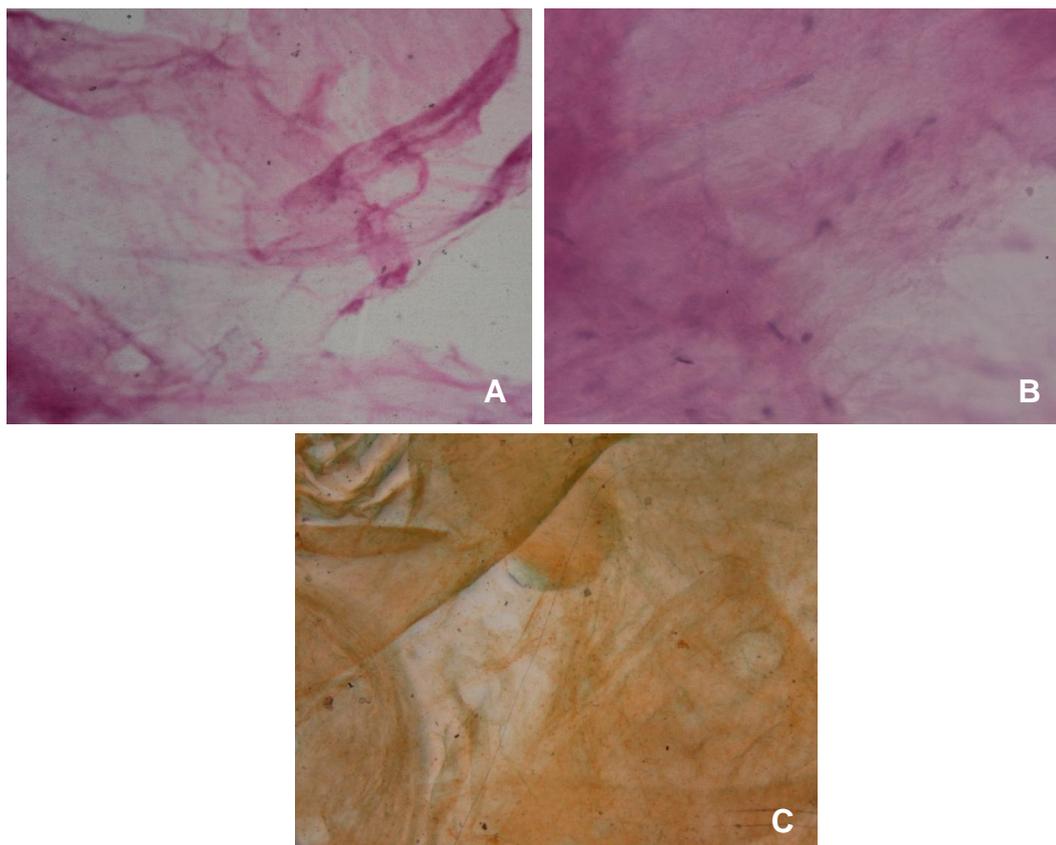


Figura 22 - Fotomicrografias do espécime do laminado

Visão geral do espécime evidenciando células, matriz extracelular, dobra e variação da espessura comuns com esta técnica - H&E, 40x (A), H&E, 100x (B) e Papanicolaou, 100x (C).

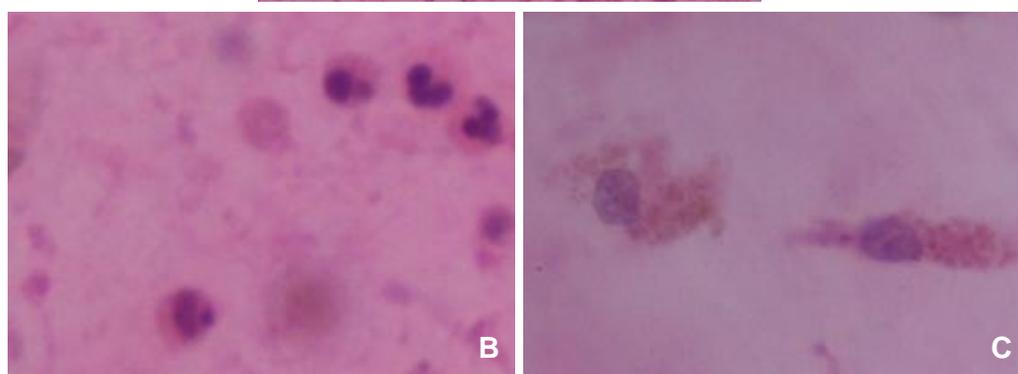
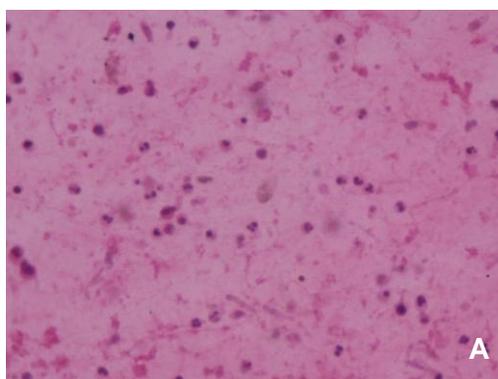


Figura 23 - Fotomicrografias dos achados típicos do cório placentário

Caso positivo para infecção - H&E, 100x (A), evidenciando, no campo de grande aumento, a presença de PMN neutrófilos trisegmentados característicos - H&E, 400x (B). Macrófagos com mecônio (cor amarelo-acastanhada característica) - H&E, 400x (C).

3.4- Fontes e processamento dos Dados

3.4.1- Fontes dos dados

Os dados clínicos e anatomopatológicos foram retrospectivamente extraídos das seguintes fontes:

1. Requisição obstétrica de exame dos anexos fetais (HUCAM, anexo 3.1);
2. Requisição de necropsia perinatal (HUCAM, anexo 3.2);
3. Requisição escrita e informações fornecidas pessoalmente pelos médicos assistentes obstetra e/ou neonatologista (HUCAM e PAT-AP);
4. Registro de procedimento médico no laboratório (PAT-AP) contendo autorização assinada pela paciente ou familiares para realizar os exames, dados demográficos e algumas informações fornecidas pelas parturientes ou familiares;
5. Registros do Berçário e da UTIN do HUCAM;
6. Cópias de documentos médicos clínicos (sumário de alta neonatal) e de exames complementares (ultrassonografia, hemograma, etc.) e anotações pelo patologista de dados fornecidos pelos pacientes, familiares e médicos assistentes;
7. Laudos anatomopatológicos dos anexos fetais e de autópsia perinatal.

Em ambos os laboratórios, requisições, cópias de documentos médicos, protocolos de exames anatomopatológicos e anotações manuscritas foram juntados e organizados no prontuário de exame anatomopatológico.

Extração dos dados. Os dados clínicos e anatomopatológicos foram extraídos retrospectivamente das fontes primárias, empregando-se os formulários (protocolos) de registros de dados elaborados pelo co-orientador para uso no GEPR (anexo 4). Esta tarefa foi realizada por estagiários do GEPR, mestranda e co-orientador.

Digitação e consistência dos dados. Os dados foram digitados em planilha Excel elaborada para uso do GEPR (figura 24), estruturada segundo técnicas de *taxonoric*^{FEINSTEIN1970}. A consistência dos dados foi assegurada por várias conferências, realizadas em conjunto pela mestranda, co-orientador e estagiários do

GEPR, variável a variável, consultando-se os documentos primários e procedendo-se às correções necessárias. Dados faltantes foram explicitados.

Softwares empregados. No processamento e análise dos dados empregaram-se os softwares Excel, Microsoft Office e Epilinfo, versão 6.0.

UFES/CCS/DP/GEPR
 Projeto: Exame extemporâneo do cório placentário para o DX de CAM
 PRMV & LFR - Última atualização em 10/08/2013

REGEXP	Grupos finais da tese 0 Laura	Amostra		Preparo		Exist R										HP			
		Amostra	numero lâminas	Preparo	Preparo	AAA	AAA2	MEC	HR	VC	CAM	r	Exist	grau	cp_gasp		cp_gasp	CP_FIR	SOE
B10/00017	1	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00067	2	PIV	1D	1	D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00085	3	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00086	4	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00103	5	PIV	1D	1	D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00263	6	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00332	7	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00414	8	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00554	9	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00609	10	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00721	11	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00749	12	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00787	13	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00794	14	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00813	15	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00814	16	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00833	17	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	03	0X	00	31		
B10/00975	18	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00976	19	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00977	20	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/00978	21	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01004	22	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01011	23	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01030	24	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01031	25	PIV	2E	2	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01053	26	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01125	27	PIV	2E	2	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01231	28	PIV	2E	2	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01250	29	PIV	2E	2	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01254	30	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01331	31	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01381	32	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	1	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01401	33	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	2	N/D	N/D	0	0	0	02		
B10/01408	34	PIV	1D	1	D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	0	0	00	00	00	00		
B10/01541	35	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	1	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01594	36	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	2	N/D	N/D	0	0	0	02		
B10/01637	37	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	2	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01756	38	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	1	N/D	X	0	0	0	00		
B10/01791	39	PIV	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01858	40	PIV	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01895	41	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	1	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01896	42	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	1	N/D	N/D	0	0	0	00		
B10/01932	43	PIV	1E	1	E	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	1	N/D	N/D	0	0	0	00		

Figura 24 - Banco de dados

3.5- Análise substantiva

A análise substantiva consistiu no refinamento das variáveis e elaboração dos construtos pertinentes aos objetivos e ao conhecimento do tema do estudo, com a finalidade de delinear a estratégia a ser empregada na análise dos dados e na interpretação dos resultados. Definiu-se, então, a constituição dos grupos, a categorização das variáveis e a análise estatística.

3.5.1- Grupos do estudo

Os casos foram agrupados com o objetivo de verificar possível variação dos índices de concordância e de valor diagnóstico de acordo com a procedência e a prevalência de CAM, definindo-se três subgrupos:

1. **Grupo HCT** (HUCAM - corte transversal) constituído por casos de amostra de corte transversal de parturientes atendidas na maternidade do HUCAM entre 11/05/2009 e 12/08/2009 (n: 108), presumivelmente representativa com alto risco obstétrico e grande ocorrência de CAM;
2. **Grupo HIB** (HUCAM - indicação do berçário) constituído por série consecutiva de casos do HUCAM examinados por suspeita clínica neonatal de CAM entre 22/02/2008 e 14/12/2012 (n: 193), presumivelmente casos com grande ocorrência de CAM;
3. **Grupo PIV** (PAT/AP - indicação variada) constituído por série consecutiva de casos em que os anexos fetais foram encaminhados ao PAT-AP por variadas indicações clínicas obstétricas entre 01/01/2010 e 31/12/12 (n: 1325), presumivelmente de parturientes de médio e alto níveis sócio-econômicos em que seria menor a ocorrência de CAM.

3.5.2- Conversão e categorização das variáveis.

As variáveis primárias foram convertidas e categorizadas em construtos e categorias pertinentes, expressos em escalas intervalar, nominal ou ordinal^{FEINSTEIN 1970 e 2002}, empregando-se os critérios recomendados pelo SIP/CLAP/OPAS/OMS e outras

fontes. As variáveis empregadas neste estudo e seus respectivos critérios definidores de categorias estão listados abaixo.

Idade materna. Idade materna em anos, como registrada nas fontes primárias (HUCAM) ou informada pela parturiente e familiares ou calculada pela data de nascimento (casos do PAT), com preferência para a calculada pela data de nascimento, se disponível. Esta variável foi categorizada como: ≤ 19 anos, 20 a 35 anos e >35 anos.

Cor/etnia. Cor/etnia materna como registrada nas fontes primárias (HUCAM) ou informada pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para a informação médica. Esta variável foi categorizada como: branca, parda, negra e amarela.

IMC materno. IMC materno calculado a partir do peso e altura como registrado nas fontes primárias (casos do HUCAM) ou informado pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para a informação médica. Esta variável foi categorizada como: magreza (IMC $<18,5$), eutrofia (IMC $\geq 18,5$ a <25), sobrepeso (IMC ≥ 25 a <30) e obesidade (IMC ≥ 30).

Grau de instrução da gestante. O grau de instrução como registrado nas fontes primárias (casos do HUCAM) ou informado pela paciente ou familiares (casos do PAT), categorizado em <4 anos de estudo (grau I incompleto), 4 a 8, 9 a 11 (grau II) e ≥ 12 (grau III).

Gesta. Número de gestações, incluindo a atual, segundo registrado nas fontes primárias, com preferência para a fonte obstétrica. Esta variável foi categorizada em primigesta (atual 1), 2 ou 3 e mais de 3 gestações.

Aborto. Número de perdas reprodutivas prévias antes da IG 22spm, segundo registrado nas fontes primárias, com preferência para a fonte obstétrica. Esta variável foi categorizada como sem ou com aborto prévio.

Idade gestacional (IG): A IG à terminação foi calculada a partir das quatro estimações disponíveis (data da última menstruação, clínica obstétrica, ultrassonográfica e exame físico neonatal). Em cada caso, a melhor estimativa foi escolhida de acordo com critérios hierárquicos com preferência para a estimativa por

ultrassonografia no I trimestre.^{BLAIR 2004, NUCCI et. al. 2001} Nos casos de óbito fetal, empregou-se a IG à terminação. Para este estudo, a IG foi expressa em semanas pós-menstruais (spm) completas^{SIP/CLAP/OPAS 2007} e categorizada como: **extremo pretermo** (22 a 27spm), **muito pretermo** (28 a 33spm), **pretermo limítrofe** (34 a 36spm), **termo** (37 a 41spm) ou **postermo** (42spm ou mais).

Via da terminação. A via da terminação, se vaginal ou cesariana, como registrada nas fontes primárias ou informada pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para a informação médica.

Sexo do feto. O gênero do feto, se masculino ou feminino, como registrado nas fontes primárias ou informado pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para fonte pediátrica.

Peso fetal ao nascer: Nos casos de nascimento vivo foi empregado o peso aferido após o nascimento, como registrado nas fontes primárias, com preferência para os documentos do pediatra. Nos casos de óbito fetal, empregou-se o peso aferido à autópsia. O peso foi classificado de acordo com a OMS¹⁹⁹⁵ em: baixo peso (<2500g), peso normal (2500 a 3999g) e macrossomia (4000g ou mais).

Condição ao nascer. A condição ao nascer, se nativo ou natimorto, como registrado nas fontes primárias ou informado pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para fonte pediátrica. Maceração observada à autópsia foi empregada como critério definidor de morte fetal anteparto.

Índice de Apgar. O escore no primeiro e no quinto minuto de vida, como registrado nas fontes primárias ou informada pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para fonte pediátrica, categorizado como menor que 7 ou 7 ou mais.

Assistência em UTIN. A assistência em UTIN, se necessária ou não, como registrada nas fontes primárias ou informada pela paciente ou familiares (casos do PAT), com preferência para fonte pediátrica.

Preparo do espécime do cório placentário: se o espécime do CP foi um raspado distendido em lâmina como esfregaço ou *squash* ou obtido por laminação com ciano-acrilato.

Distribuição topográfica da CAM: as topografias dos anexos com exsudato inflamatório: membranas extra-placentárias, placenta, vasos alantocoriais e cordão umbilical.

Estágio da corioamnionite histológica. O estágio da corioamnionite histológica foi aferido no sítio (membranas extra-placentárias ou placenta) em que foi maior e categorizado como: **estágio 1:** algum (pelo menos um) leucócito PMN neutrófilo^{FOX & LANGLEY 1971} na camada subcorial da placenta (camada de Langhans) ou na decídua das membranas extra-placentárias; **estágio 2:** algum (pelo menos um) leucócito PMN neutrófilo no cório da placenta ou das membranas extra-placentárias; **estágio 3:** algum (pelo menos um) leucócito PMN neutrófilo no conjuntivo ou epitélio do âmnio da placenta ou das membranas extra-placentárias. Adicionalmente, categorizou-se também como CAM estágios 2 e 3 ou CAM ausente e estágio 1.

Grau da corioamnionite nas membranas placentárias ou extra-placentárias. O exsudato de PMN neutrófilos nas lâminas histológicas foi quantificado na topografia mais intensamente acometida, de acordo com os critérios propostos por Altshuler:¹⁹⁹⁷ **grau 0:** nenhum PMN em nenhum sítio; **grau 1:** menos de 10 PMN/CGA e esparsos focos; **grau 2:** entre 10 e 30 PMN/CGA; **grau 3:** mais de 30 PMN/CGA. Adicionalmente, categorizou-se também como CAM graus 2 e 3 ou CAM ausente e grau 1.

Resposta inflamatória materna. A existência de resposta inflamatória materna foi categorizada como: **ausente:** nenhum exsudato inflamatório em nenhum sítio ou **presente:** algum exsudato inflamatório na decídua, camada subcorial, cório ou âmnio das MEP ou da placenta.

Resposta inflamatória fetal. A existência de FIR foi categorizada como: **ausente:** nenhum exsudato inflamatório em vaso alantocorial ou em qualquer sítio do cordão umbilical ou **presente:** algum exsudato inflamatório em vaso alantocorial ou em qualquer sítio do cordão umbilical.

3.5.3- Distribuição combinada de atributos.

Para evidenciar a distribuição combinada de atributos da CAM (existência, topografia, estágio, grau e origem do exsudato) segundo o método diagnóstico e o grupo do estudo, foram elaborados diagramas de Venn com o programa **Venny**.^{Venny 2013}

3.6– Análise estatística

As proporções foram sumarizadas pela frequência relativa e correspondente intervalo de confiança de 95% calculados pelo método de Wald. Casos com dados faltantes para determinada variável foram excluídos da análise desta variável específica, presumindo-se que esta falta foi aleatória, e o número efetivo de casos com dados foi explicitado em cada resultado.

Não independência entre variáveis dicotômicas foram analisadas pelo teste do qui-quadrado com nível de significância bicaudal de 0,05; o teste exato de Fisher foi usado se a frequência esperada de alguma célula era menor que 5^{ALTMAN 1991}.

Os índices de concordância quanto ao diagnóstico de CAM por EECP e por HP rotineira foram calculados como proporções de acordo e discrepância (sub e sobrediagnósticos) e índice de acordo de *kappa*, nos grupos HCT e PIV, de acordo com a existência, estágio, grau, origem do exsudato e tipo do espécime do CP.

Os índices de valor diagnóstico foram analisados em tabelas de contingência de 2X2, contrastando o diagnóstico pelo EECP com a HP convencional (padrão-ouro), calculando-se as taxas de falsos positivo (TF+) e negativo (TF-), sensibilidade (S), especificidade (E), valores preditivos positivo (VP+) e negativo (VP-), razões de verossimilhança positiva (RV+) e negativa (RV-), *odds ratio* (OR), razão simples (RS), incremento direto (ID) e número necessário para o efeito (NNE)^{FEINSTEIN 2002}. Adicionalmente, como indicador resumo do valor diagnóstico, calculou-se o ganho de conhecimento com o teste (GCT)^{FRIEDLANDER et. al. 1998} como o incremento direto entre a probabilidade pós-teste e a probabilidade pré-teste, interpretado como a contribuição do teste para o diagnóstico^{SACKETT et. al. 2000, FRIEDLANDER et. al. 1998}.

3.7- Modelo de apresentação dos resultados

Os resultados de variáveis nominais e ordinais foram apresentados em tabelas e/ou gráficos. Foram empregados gráficos de barras emparelhadas proporcionais percentuais, elaborados de acordo com as seguintes diretrizes:

- A numeração dos gráficos obedeceu ao agrupamento das variáveis de acordo com o ordenamento semiológico tradicional e com os objetivos do estudo;
- A primeira coluna exibe a distribuição dos casos na amostra como um todo (Todos);
- As demais colunas representam os três grupos do estudo (HCT, HIB e PIV);
- Cada coluna foi dividida em retângulos, ficando a categoria mais anormal na posição inferior;
- A linha de tendência explicita o contraste entre as categorias dos vários grupos;
- Dentro de cada retângulo está apresentada a frequência absoluta da categoria, cuja soma corresponde ao número efetivo de casos com dados em cada grupo;
- O eixo dos valores (y) mostra a frequência relativa e está formatado com marcas de escala e linhas secundárias a cada 20%, para evidenciar o critério de avaliação do incremento direto de magnitude significativa entre os grupos (maior que 20%)^{FEINSTEIN 2002}.

Um guia para análise destes gráficos encontra-se no anexo 5.

Esta forma de apresentação foi escolhida porque, além de registrar a frequência absoluta de cada categoria em cada grupo, também explicita o contraste entre as categorias e os grupos. Ademais, tornando explícitos os números absolutos, permite ao leitor realizar a análise que deseje.

Para explicitar os cálculos e os índices de concordância e de valor diagnóstico de cada análise, foram apresentadas tabelas de contingência de 2x2 células, formatada de modo que os lados horizontais fossem proporcionais aos valores absolutos contidos em cada célula. Os vários estatísticos foram apresentados em caixa de

texto anexa e um sumário dos índices pertinentes ao estudo foi apresentado como tabela.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão correspondente estão apresentados em conjunto nesta seção.

4.1- Características dos casos estudados

4.1.1- Amostra e dados

A casuística estudada incluiu 1626 casos assim distribuídos: 108 (6,6%) no grupo HCT, 193 (11,9%) no grupo HIB e 1325 (81,5%) no grupo PIV. Os casos de ambos os laboratórios incluíram tanto gestações de baixo como de alto risco, mas a proporção de casos sob risco e o grau de risco são diferentes, presumindo-se que os casos do HUCAM seriam os de maior risco. Para explicitar estas diferenças, incluiu-se uma comparação entre os grupos do estudo quanto às variáveis consideradas fatores de risco para infecção amniótica (tabelas 1 a 3).

Devido à natureza retrospectiva e a não consulta do prontuário médico em todos os casos, especialmente o cartão da gestante (grupos HIB e PIV), não foi possível obter todos os dados de todas as variáveis em todos os casos. Esta incompletude foi explicitada, empregando-se como denominador, em cada análise, o número efetivo de casos com dados em cada gráfico e tabela.

Na extração de dados, presumiu-se que o registro de ausência de problemas durante a gestação (tipicamente rotulada como “gestação sem intercorrências” nas requisições de exame) permitia inferir a ausência dos problemas mais comuns (como DHEG e diabetes mellitus) e assim foi feito. Obviamente, estas informações não merecem a mesma confiança que os eventos e achados sobre o parto, período neonatal, exames realizados durante a internação e anatomopatológicos sobre os quais havia registro explícito.

Mais que a prática clínica, esta incompletude reflete a qualidade do preenchimento dos informes clínicos nestas requisições. Ainda assim, sobretudo porque a extração de dados foi feita por médicos, não nos pareceu haver razões para presumir que um viés estivesse em operação para a falta dos dados sobre algumas variáveis ou sobre os critérios de exclusão (como a IG em todos os grupos do estudo e os casos ainda não concluídos no grupo PIV).

4.1.2- Características demográficas maternas

As características demográficas maternas estão apresentadas na tabela 1. Nos casos como um todo, cor/etnia não branca ocorreu em 33,8% dos casos, gestante adolescente (≤ 19 anos) em 4,9% e baixa escolaridade (até 8 anos de estudo) em 8,0%. Os resultados variaram nos três grupos do estudo: cor/etnia não branca (62,6% no HUCAM *versus* 28,9% no PAT-AP, ID: 33,7%); parturientes adolescentes (22,3% no HUCAM *versus* 0,8% no PAT-AP, ID: 22,5%) e baixa escolaridade (94,6% no HUCAM *versus* 1,2% no PAT-AP, ID: 93,4%).

Estes resultados mostram que os casos do HUCAM (HCT & HIB), diferem marcadamente dos casos do PAT-AP (PIV), mas não se detectaram grandes diferenças entre os dois grupos de casos do HUCAM (HCT e HIB). Ou seja, as pacientes atendidas no HUCAM constituem um conjunto, de fato, de baixo nível sócio-econômico.

4.1.3- Características da gestação atual

As características das gestações estão apresentadas na tabela 2. Nos casos como um todo, primiparidade ocorreu em 56,6% dos casos, magreza em 4,3%, sobrepeso em 20,8% e obesidade em 5,5%. Os resultados variaram nos três grupos do estudo: primiparidade (42,0% no HUCAM *versus* 59,7% no PAT-AP, ID: 17,7%), magreza (13,2% no HUCAM *versus* 3,9% no PAT-AP, ID: 9,3%); sobrepeso (28,3% no HUCAM *versus* 20,5% no PAT-AP, ID: 7,8%) e obesidade (17,0% no HUCAM *versus* 5,0% no PAT-AP, ID: 11,9%).

Tabela 1 - Características demográficas

Variável	Categorias	Todos			HCT			HIB			PIV		
		Nef	F	f	Nef	F	f	Nef	F	f	Nef	F	f
Idade materna(anos)		1617			108			184			1325		
	≤ 19		79	4,9		20	18,5		48	26,1		11	0,8
	20 a 35		1292	79,9		77	71,3		119	64,7		1096	82,7
	> 35		246	15,2		11	10,2		17	9,2		218	16,5
Raça/etnia		1494			106			113			1275		
	Branca		989	66,2		27	25,5		55	48,7		907	71,1
	Parda		439	29,4		55	51,9		48	42,5		336	26,4
	Negra		64	4,3		24	22,6		10	8,8		30	2,4
	Amarela		2	0,1		0	0,0		0	0,0		2	0,2
Escolaridade (anos de estudo)		1270			92			-			1178		
	< 4		36	2,8		35	38,0		-			1	0,1
	4 a 8		65	5,1		52	56,5		-			13	1,1
	9 a 11		227	17,9		4	4,3		-			223	18,9
	≥ 12		942	74,2		1	1,1		-			941	79,9

Nota: As informações sobre a escolaridade das gestantes do grupo HIB não estiveram disponíveis.

Tabela 2 - História obstétrica, da gestação atual e da terminação

Variável	Categorias	Todos			HCT			HIB			PIV		
		Nef	F	f	Nef	F	f	Nef	F	f	Nef	F	f
Índice de massa corporal (kg/m ²)		1307			52			1			1254		
	Magreza		56	4,3		7	13,5		0	0,0		49	3,9
	Eutrofia		907	69,4		22	42,3		0	0,0		885	70,6
	Sobrepeso		272	20,8		15	28,8		0	0,0		257	20,5
	Obesidade		72	5,5		8	15,4		1	100,0		63	5,0
Gestação atual		1598			108			175			1315		
	1		904	56,6		57	52,8		62	35,4		785	59,7
	2 a 3		597	37,4		38	35,2		65	37,1		494	37,6
	> 3		97	6,1		13	12,0		48	27,4		36	2,7
Aborto prévio		1384			57			26			1301		
	Sim		187	13,5		0	0,0		1	3,8		186	14,3
	Não		1197	86,5		57	100,0		25	96,2		1115	85,7
Via do parto		1585			103			176			1306		
	Vaginal		406	25,6		34	33,0		78	44,3		294	22,5
	Cesariana		1179	74,4		69	67,0		98	55,7		1012	77,5

4.1.4- Desfecho perinatal

Os resultados referentes ao desfecho perinatal estão apresentadas nas tabelas 2 e 3.

Via do parto. Parto cesariano ocorreu em 74,4% nos casos em conjunto, sem diferença apreciável entre os dois grupos do HUCAM (HCT: 67,0% *versus* HIB: 55,7%), mas significativamente maior nos casos do PAT-AP que no HUCAM (77,5% *versus* 59,9%, ID: 17,6%). Esta diferença é inesperada porque o HUCAM atende casos de maior risco obstétrico nos quais, presumivelmente, mais cesarianas são necessárias. Todavia, as parturientes do grupo PIV incluíam mais gestantes idosas (16,5% *versus* 9,5% no HUCAM). A frequência de terminação por cesariana é importante porque implicaria em trabalho de parto mais curto e, portanto, em corioamnionite mais precoce.

Idade gestacional. A melhor estimativa da IG em cada caso foi empregada, correspondendo à melhor estimativa possível (DUM e US no I ou II trimestres; IG obstétrica; exame físico neonatal).

Na casuística como um todo, a IG variou entre 22 e 44spm, com média de 37,2spm, mediana de 38spm, e os 50% centrais entre 36 e 39spm; 26,2% fetos nasceram pretermo (<37 spm): 2,9% extremamente pretermo (22 a 27spm), 10,0% muito pretermo (28 a 33spm), 13,2% pouco pretermo (34 a 36spm); 73,3% no termo (37 a 41spm) e 0,6% no postermo (42spm ou mais). A mediana da IG foi menor no grupo HIB que nos grupos HCT e PIV (34, 38 e 38spm, respectivamente), assim como a proporção de pretermos (60,7% no HUCAM *versus* 18,5% no PAT-AP, ID: 42,2%) e de muito pretermo (<34 spm) 37,6% no HUCAM *versus* 7,5% no PAT-AP, ID: 30,1%. Como se esperava, a ocorrência de nascimentos pretermos foi maior nas gestantes atendidas em hospital público terciário que os 3,4 a 15% relatados em estudos populacionais brasileiros^{SILVEIRA 2008} e os 4,8% no Estado do Espírito Santo.^{SINASC-ES, BRAZIL}

Sexo fetal. Fetos masculinos corresponderam a 52,0% dos casos como um todo, não diferindo significativamente nos grupos HCT (43,3%), HIB (52,9%) e PIV (52,6%).

Tabela 3 - Características do desfecho perinatal

Variável	Categorias	Todos			HCT			HIB			PIV		
		Nef	F	f	Nef	F	f	Nef	F	f	Nef	F	f
Idade gestacional à terminação		1608			108			182			1318		
	22 a 27spm		47	2,9		7	6,5		17	9,3		23	1,7
	28 a 33spm		161	10,0		17	15,7		68	37,4		76	5,8
	34 a 36spm		212	13,2		15	13,9		52	28,6		145	11,0
	37 a 41spm		1179	73,3		68	63,0		42	23,1		1069	81,1
	≥42spm		9	0,6		1	0,9		3	1,6		5	0,4
Condição fetal ao nascer		1620			108			189			1323		
	Nativo		1582	97,7		103	95,4		189	100,0		1290	97,5
	Natimorto		38	2,3		5	4,6		0	0,0		33	2,5
Sexo fetal		1609			104			187			1318		
	masculino		837	52,0		45	43,3		99	52,9		693	52,6
	feminino		772	48,0		59	56,7		88	47,1		625	47,4
Índice de Apgar no 1º minuto		1458			102			173			1183		
	< 7		128	8,8		16	15,7		58	33,5		54	4,6
	7 ou mais		1330	91,2		86	84,3		115	66,5		1129	95,4
Índice de Apgar no 5º minuto		1455			102			173			1180		
	< 7		88	6,0		16	15,7		57	32,9		15	1,3
	7 ou mais		1367	94,0		86	84,3		116	67,1		1165	98,7
Atenção em UTIN		1366			101			155			1110		
	Sim		362	26,5		24	23,8		131	84,5		207	18,6
	Não		1004	73,5		77	76,2		24	15,5		903	81,4
Peso fetal ao nascer (g)		1612			108			185			1319		
	< 2500		398	24,7		39	36,1		127	68,6		232	17,6
	2500 a 3999		1146	71,1		64	59,3		54	29,2		1028	77,9
	≥ 4000		68	4,2		5	4,6		4	2,2		59	4,5

Peso fetal. No conjunto dos casos, o peso fetal ao nascer pôde ser avaliado em 1612 (99,1%) dos casos, variando de 276 a 4735g, com média 2906 \pm 800g, mediana de 3060g e os 50% centrais entre 2504g e 3455g. Baixo peso fetal ao nascer foi observado em 24,7% (IC 95%: 20,6 a 29,0%), sendo mais comum nos casos HCT (36,1%) e HIB (68,6%) que no PIV (17,6%) e, correspondentemente, mais comuns nos grupos HCT e HIB que os 7,7% do SINASC-ES. Estes resultados mostram que, em relação à população, há um viés de casos com maior risco obstétrico.

Índice de Apgar. Índice de Apgar <7 no primeiro minuto foi observado em 8,8% nos casos como um todo, em 15,7% no grupo HCT, 33,5% no grupo HIB e em 4,6% no grupo PIV, revelando anormalidades intrapartais com reflexo na condição ao nascer maior no HUCAM e muito maior no grupo HIB.

A atenção em UTIN. Atenção em UTI neonatal foi necessária em 26,5% nos casos como um todo, em 23,8% no grupo HCT, 84,5% no grupo HIB e 18,6% no grupo PIV, revelando anormalidades intrapartais com reflexo na condição ao nascer maior no HUCAM e muito maior no grupo HIB.

Condição fetal ao nascer. Nos casos como um todo, morte fetal ocorreu em 2,3% dos casos: 4,6% no grupo HCT e 2,5% no grupo PIV.

4.2- Espécime do exame extemporâneo do cório placentário

Nesta seção descreve-se uma análise qualitativa dos procedimentos empregados para obtenção, preparo pré-analítico e análise microscópica do CP.

4.2.1- Obtenção do espécime do cório placentário.

Espécime do CP pôde ser obtido em todos os casos. Dois tipos de espécimes foram obtidos: espécime de raspado e espécime de laminação com ciano-acrilato. Ambos revelaram-se fáceis de aprender e de empregar, mas a experiência revelou alguns detalhes que precisam ser observados para obter um espécime satisfatório:

- **Cuidadosa localização da área de coleta.** Os melhores espécimes são obtidos de área com âmnio não desgarrado, entre os vasos alantocoriais, cuidadosamente limpa, antes da incisão e avulsão do âmnio; desgarramento prévio do âmnio não impede a coleta, mas torna mais crítico o cuidado seguinte.
- **A superfície corial exposta precisa ser seca com pano de algodão** para retirar o excesso de líquido de modo a não inflacionar a amostra com o abundante líquido e matriz extracelular da camada esponjosa, que frequentemente está edemaciada.
- **A área a ser laminada deve ser plana ou tornada plana por compressão firme;** se permanecer convexa ou côncava, o excesso de cola dificulta a laminação e obtém-se laminado espesso.
- Todo material obtido com o raspado deve ser capturado com o instrumento devido à tendência dele permanecer sobre a superfície do cório.
- **A distensão na lâmina de vidro é mais fácil de realizar empregando a técnica de *squash*** em que o material obtido por raspado é amassado entre duas lâminas de vidro^{TAKAHASHI 1995} do que com a técnica de esfregaço, garantindo espécimes menos espessos.
- **O adesivo deve ser depositado em pequena quantidade** (área não superior a 5x5mm) sobre a lâmina de vidro porque será espalhado durante a compressão; grande quantidade de adesivo é mais difícil de aplicar sobre o cório e tende a formar bordas irregulares e espessas.
- **É preciso esperar a polimerização completa do adesivo** (pelo menos 60 segundos) de modo a obter boa adesão da superfície do cório ao vidro, evitando laminação incompleta, laminação de mais de uma camada e fratura do laminado.
- **Eventuais laminações espessas e não planas devem ser desbastadas com lâmina de bisturi,** garantindo laminado plano; o desbaste pode ser feito antes de corar ou antes de montar com lamínula.
- **A qualidade do espécime deve ser avaliada** e eventual espécime insatisfatório deve ser descartado e substituído por nova coleta.
- **O único impedimento é o dessecamento completo da face fetal por exposição ao ar,** que impede qualquer coleta de espécimes.

Na verdade, como em todo procedimento técnico, a perfeição vem com a prática e nós pudemos comprovar que sempre é possível obter um bom espécime, na maioria das vezes, com apenas uma coleta.

4.2.2- Colorações cito e histopatológicas

A coloração pela hematoxilina e eosina rotineira revelou-se mais adequada devido a facilidade, rapidez e maior transparência do material. Também a coloração de Papanicolaou apresentou boa qualidade, especialmente campos mais transparentes por corar menos a matriz extracelular. Infelizmente, colorações mais rápidas como o May-Grunwald-Giemsa, o azul de metileno, o azul de toluidina e o panóptico (Diff-Quick Laborclin), coram excessivamente a abundante substância extracelular do cório e resultam em menor contraste entre o fundo e as células coriais.

4.2.3- Quantidade e representatividade dos espécimes do cório placentário

A representatividade do espécime depende de quanto e quão bem ele representa o tecido em estudo. O espécime do EECF difere radicalmente dos cortes histológicos convencionais em três importantes aspectos: quantidade de tecido, orientação e extensão do espécime.

A amostra típica empregada na rotina histopatológica do SAP/HUCAM e PAT-AP é um fragmento com cerca de 20mm de comprimento, 5mm de espessura e 5 a 7mm de altura. Após processamento histológico, o corte histológico convencional (rotineiro) é uma fatia fina e vertical (em ângulo reto à superfície horizontal à face fetal da placenta) que contém toda a espessura do âmnio, toda a espessura do cório e parte do parênquima placentário subjacente. Ao contrário do que se pensa comumente, este “corte histológico” não é um corte no verdadeiro sentido geométrico de superfície de corte, mas um *slice*^{HANS ELIAS 1983}, um paralelograma (tridimensional), com cerca de 0,004 a 0,006mm (4 a 6 micrômetros) de espessura. Como o cório mede cerca 1mm de espessura (sem o fibrinóide de Langhans), a amostra examinada ao microscópio resulta constituir um paralelograma com cerca de 0,1mm³ (20mm de comprimento * 1mm de espessura * 0,005mm de largura).

O laminado do cório, em contraste, é uma fatia (*slice*) horizontal, paralela à face fetal da placenta. Também não é um corte, mas uma camada plana com forma muito irregular, cerca de 100mm² de área e cerca de 0,01mm de espessura (médias nos casos deste estudo), correspondendo a um equivalente paralelograma de 10mm³. Assim, o volume de tecido examinado em um laminado do CP é 100 vezes maior que o volume de tecido examinado em um “corte” histológico convencional de CP!

Embora a quantidade de material e a celularidade no EECp e no fragmento vertical da placenta (HP) não tenham sido aferidas, a observação microscópica subjetiva revelou claramente que é muito maior no espécime do EECp.

Evidencia-se, então, que ambos os métodos propiciam amostra de um mesmo tecido, mas a amostra do EECp é muito maior e mais representativa. À primeira vista, esta explicação parece simplista e inadequada porque a amostra do laminado (e do esfregaço) difere do “corte” histológico convencional da placa corial da placenta em dois importantes aspectos: (1) só representa o cório placentário (não o âmnio e a camada de Langhans) e (2) só representa uma das quatro camadas do cório.

Entretanto, o critério para estadiar a CAM é identificar a extensão máxima da migração do PMN neutrófilo, isto é, a maior distância em camadas que ele alcançou desde o sangue materno no espaço interviloso em direção à fonte do quimiotático (o líquido amniótico). Portanto, logicamente, o exame de apenas uma das camadas do cório não permite o diagnóstico do estágio em todos os casos, mas somente nos casos em que esta camada específica foi atingida pelo neutrófilo (estágios 2 e 3 para o EECp). Isso significa que, valha o que valer, um exame apenas do cório pode não identificar todos os casos de CAM. Ainda assim, como se trata de amostra muito maior, esfregaço e laminado representam melhor a camada reticular do cório, a segunda camada mais externa de tecido fetal, portanto mais próxima da fonte de neutrófilos que as camadas celular, esponjosa e o âmnio. Deve-se esperar, portanto, que o esfregaço e o laminado sejam até mais sensíveis do que o corte histológico para revelar CAM e, conseqüentemente, diagnosticar estágio 2 em casos que o corte histológico revelaria estágio 1 ou ausência de exsudato.

4.2.4- Custo e tempo de exame

Custo do procedimento. Em termos de tempo dispendido, o custo do serviço do técnico histológico é semelhante que o de uma coloração H&E ou Papanicolaou e muito menor que o de uma biópsia, uma vez que não são necessários processamento histológico, emblocamento e microtomia. O trabalho médico de microscopia é semelhante ao de uma biópsia ou citopatologia.

Tempo do procedimento. A fixação em etanol (mínimo de 15 minutos) e a coloração pela hematoxilina e eosina (10 minutos) são etapas mais demoradas que a microscopia (5 minutos). O resultado do exame pode ser conhecido e informado em cerca de 30 minutos.

Trata-se, portanto, de procedimento rápido e de baixo custo.

4.2.5- Exequibilidade do exame extemporâneo do cório placentário.

Considerando a facilidade de aprendizado e execução, os custos materiais e o tempo e esforço necessários, o EECP é um procedimento exequível para emprego em qualquer laboratório de Patologia.

4.3- Ocorrência de corioamnionite

Neste estudo, a ocorrência de CAM pôde ser aferida por dois métodos: a histopatologia convencional (HCT e PIV) e o EECP (HCT, HIB e PIV).

4.3.1- Ocorrência de CAM histopatológica

A ocorrência de CAM por HP foi 12,8% (IC 95%: 8,0 a 17,6) nos grupos HCT e PIV considerados em conjunto, 31,5% (IC 95%: 15,9 a 47,1) no grupo HCT e 11,3% (IC 95%: 6,2 a 16,4) no grupo PIV (tabela 4 e gráfico 1).

A maior ocorrência de CAM nos casos do HUCAM, pode ser atribuída à maior proporção de gestações pretermo, partos vaginais e menor nível sócio-econômico, conhecidos fatores de risco para infecção amniótica, em nítido contraste com o observado no laboratório privado.

A ocorrência de CAM no grupo HCT foi similar à relatada em outros estudos locais com casuística semelhante^{MERÇON DE VARGAS1992, BATISTUTA NOVAES 2003, FEITOSA 2011}, parecendo haver, entretanto, gradual diminuição com o passar dos anos. Esta comparação não é de todo adequada porque, embora os três estudos empregassem o mesmo tipo de amostra (corte transversal) e método diagnóstico (histopatologia) no mesmo tipo de pacientes (parturientes de maternidades públicas de Vitória), esta prevalência não está normatizada para a data do estudo e a variável proporção de pretermos e de partos cesarianos devido às mudanças de encaminhamento (no período do estudo, o HUCAM já atendia, preferencialmente, casos de alto risco) e no manejo obstétrico.

Tabela 4 - Ocorrência de CAM de acordo com o método de exame

	Prevalência (%) segundo o método			Incremento (%)					
	EECP (1)	HP (2)	EECP ou HP (3)	(1-2)	(1-2/2)	(1-3)	((1-3)/3)	(2-3)	((2-3)/3)
Grupos									
Todos	14,2	12,8	19,9	1,4	0,1	-5,7	-0,3	-7,0	-0,4
HCT	41,7	31,5	56,5	10,2	0,3	-14,8	-0,3	-25,0	-0,4
PIV	9,5	11,3	15,2	-1,8	-0,2	-5,7	-0,4	-3,9	-0,3

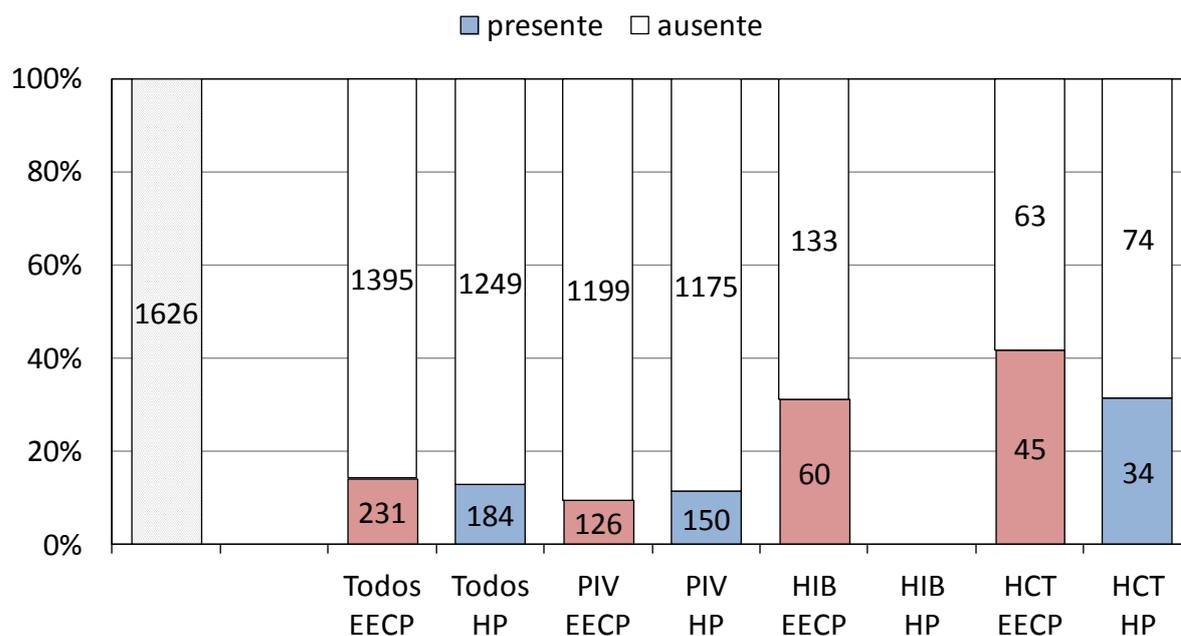


Gráfico 1 - Comparação da ocorrência de CAM por EECP e HP nos grupos do estudo

A menor ocorrência no grupo PIV pode ser atribuída, naturalmente, ao fato desta amostra ser constituída por gestantes de médio e alto nível sócio-econômico. Aliás, esta amostra nem mesmo pretendeu representar as gestantes deste nível sócio-econômico tendo em vista os variados motivos para encaminhamento das placentas a exame anatomopatológico e a consequente impossibilidade de conhecer a fração e a representatividade amostrais.

Tendo em vista os objetivos de um estudo sobre valor diagnóstico, o achado relevante foi que se logrou obter, justamente em relação com a ocorrência estimada para a população de menor nível sócio-econômico (HCT), um grupo com ocorrência 3 vezes menor (PIV) para avaliar o valor diagnóstico, cujos índices variam com a prevalência^{FEINSTEIN 2002}.

4.3.2- Espectro nosológico da CAM

Espectro nosológico é a descrição da distribuição de uma doença de acordo com os momentos, fases temporais da sua história natural (subclínica, iatrorópica, prodrômica, clínica e resolução ou óbito), morfologia e outros critérios. No presente estudo, não se pôde contar com os diagnósticos molecular, microbiológico ou clínico

de infecção amniótica ou de corioamnionite. Poucas requisições de exame mencionavam explicitamente a suspeita obstétrica de infecção amniótica e não se pretendeu deduzir o diagnóstico a partir dos achados clássicos (febre, PROM, pretermo, bolsa rota SOE, etc.) eventualmente relatados. Nem mesmo o grupo HIB se pode considerar como casos de CAM clínica, uma vez que a suspeita clínica neonatal incluía casos de mera prematuridade. Entretanto, pode-se presumir que a maioria dos casos de todos os grupos incluíam casos de CAM subclínica, uma vez que - assim o relatam todos os estudos - a maioria das infecções amnióticas é subclínica^{KRAUSS 2008} e o diagnóstico de CAM é feito, após o parto, pelo exame anatomopatológico dos anexos fetais.

Anatomopatologicamente, o espectro da CAM é bem conhecido e classicamente descrito em termos topográficos, da origem da resposta inflamatória, extensão e grau da CAM. A descrição deste espectro é essencial para avaliar a reprodutibilidade e o valor diagnóstico do EECF, uma vez que permite explicitar eventual viés de espectro, sobretudo devido à tendência recente de ultimar o parto mais rapidamente, intervindo precocemente através do uso de ocitócitos e misoprostol ou da indicação mais liberal de cesariana.

Como o EECF propõe-se diagnosticar apenas parte do espectro da CAM, isto é, CAM estágios 2 e 3, mais extensos e associados com maior risco de complicações maternas e fetais, estudou-se o espectro nosológico da CAM histopatológica nos casos em que se pôde contar com este exame (HCT e PIV).

Distribuição topográfica da corioamnionite. Dos 184 casos positivos para CAM no HP (HCT e PIV), em 178 (96,7%) a distribuição topográfica pôde ser estudada minuciosamente: CAM foi observada nas MEP em 39,9%, na placenta em 94,4%, nos vasos alantocoriais em 14,6% e no cordão umbilical em 15,2%; mais de um sítio foi acometido em muitos casos, de modo que a soma é maior que 100%. Todavia, esta descrição simples não dá conta das várias combinações possíveis, como mostra o gráfico 2. Dos 15 subconjuntos (combinações) possíveis, foram observados 8, sendo mais frequentes o comprometimento isolado da placenta (57,9%), da placenta e das membranas extra-placentárias (18,0%) e o comprometimento de todas as estruturas (10,7%). O comprometimento isolado das MEP ocorreu em apenas 5,1% dos casos. Esta distribuição é semelhante à observada em outros

estudos locais, mas a comparação com a maioria dos estudos é difícil porque não descrevem a distribuição topográfica do exsudato, embora a menor frequência de acometimento do cordão esteja de acordo com os relatos^{KRAUSS 2008}. Na placa corial há maior exsudato porque há mais sangue materno e este local deve ser mais permeável aos quimiotáxicos. Além disso, pode ser que a amostra usual (um enrolado das MEP) seja uma amostra insuficiente.

O achado mais relevante para os objetivos deste estudo é que em 94,4% dos casos há acometimento da placenta e, portanto, são potencialmente diagnosticáveis pelo EECF.

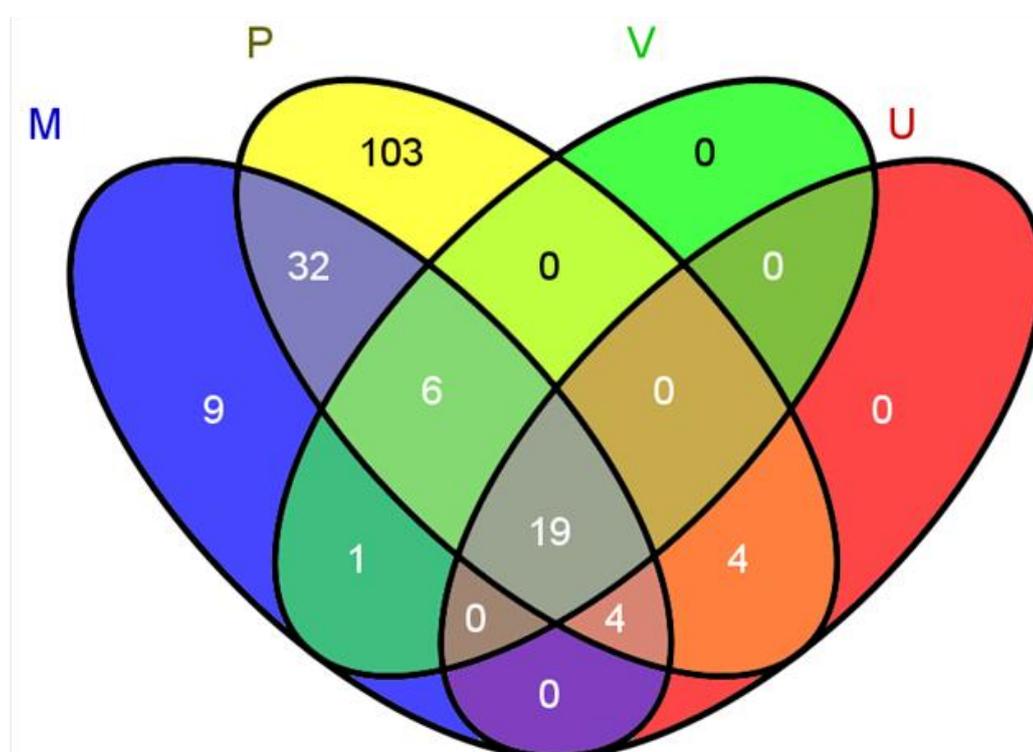


Gráfico 2 - Distribuição topográfica do exsudato inflamatório em 178 casos de CAM nos grupos HCT e PIV

Estágio da corioamnionite. O estágio da CAM por HP (HCT e PIV), marcador da extensão da migração amniotrópica do exsudato desde sua origem no sangue materno, pôde ser estudado nos 184 casos (100%) positivos para CAM no HP: estágio 1: 68,5%, 2: 15,2% e 3: 16,3% (gráfico 3). Esta distribuição é semelhante à de outros estudos, embora a proporção de estágio 3 seja maior que a relatada por

Redline^{KRAUSS 2008}. O achado relevante para o presente estudo é que apenas 31,5% dos casos de CAM por HP (estágios 2 e 3) seriam potencialmente diagnosticáveis pelo EECF, mas o que se observou foi que o EECF efetivamente diagnosticou casos de CAM por HP estágio 1.

Grau da corioamnionite. O grau da CAM por HP (HCT e PIV), marcador da intensidade da exsudação de PMN neutrófilos, do estímulo quimiotático e da capacidade de resposta materna, pôde ser estudado nos 184 (100%) casos positivos para CAM no HP: grau 1 em 70,7%, grau 2 em 24,5% e grau 3 em 4,9% (gráfico 4). Esta distribuição é semelhante à de outros estudos locais, mas não pôde ser comparada a outros estudos devido à omissão deste dado.

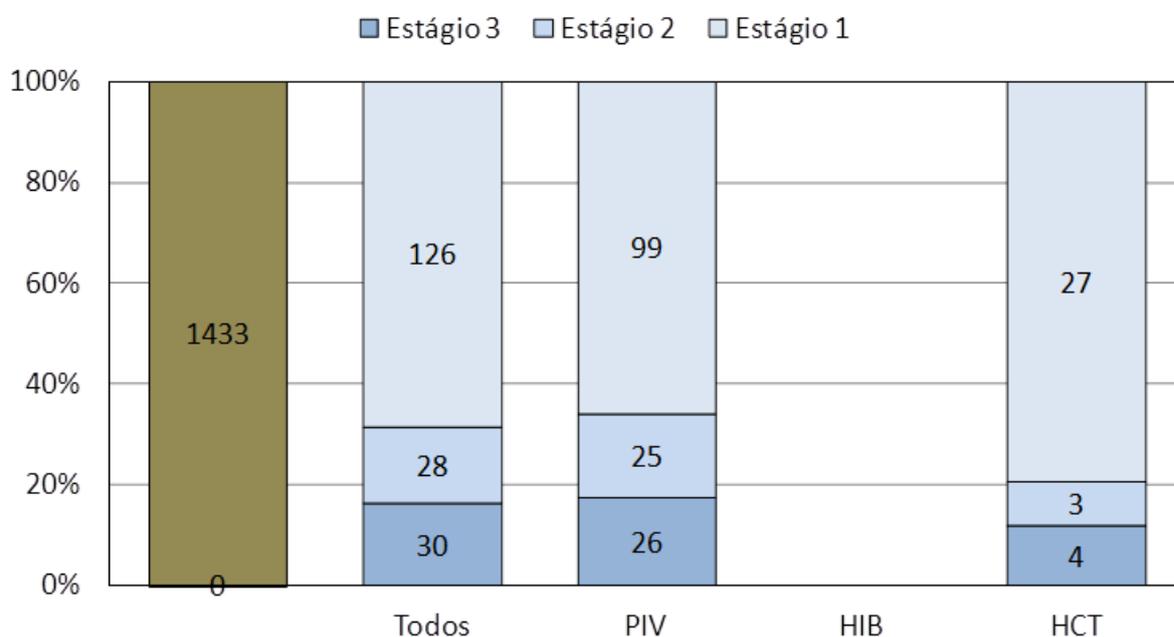


Gráfico 3 - Estágios da CAM HP nos vários grupos do estudo

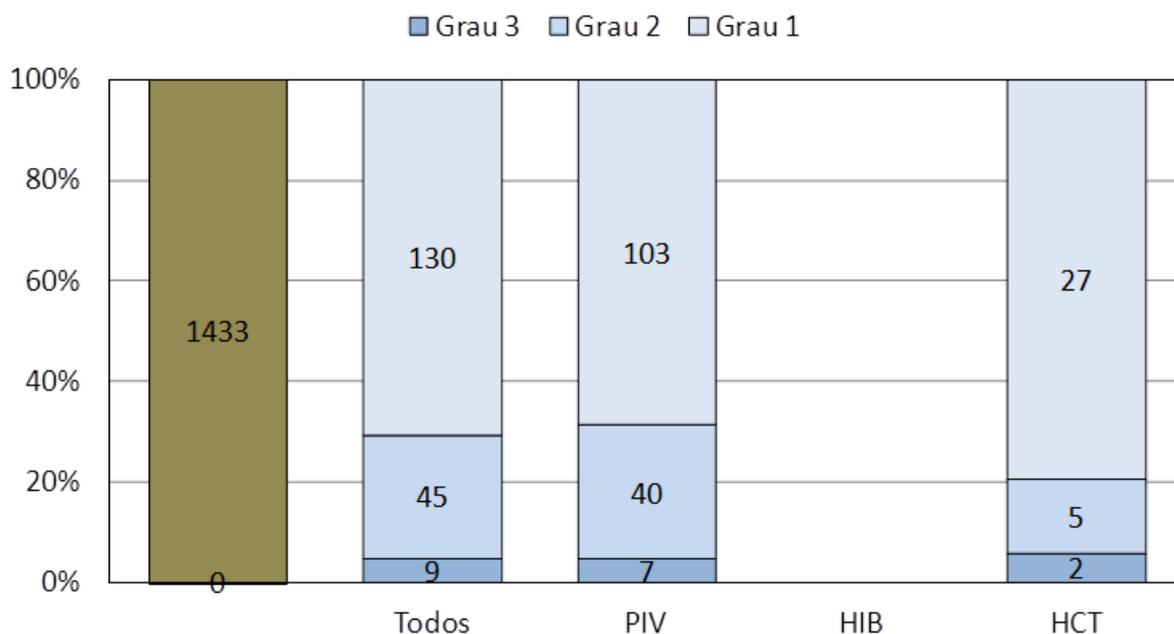


Gráfico 4 - Graus da CAM HP nos vários grupos do estudo

Resposta inflamatória fetal. Evidência histopatológica que o feto respondeu à infecção amniótica através da migração de PMN neutrófilos desde sua origem no sangue fetal dos vasos alantocoriais ou umbilicais foi observada em 2,4% dos casos nos grupos HCT e PIV em conjunto (HCT: 4,6% e PIV: 2,2%) (gráfico 5). Esta distribuição é semelhante à de outros estudos locais. Limitando a análise aos casos com maior risco (HTC), a proporção observada (4,6%) é menor que a relatada por Redline ^{KRAUSS 2008} talvez porque, no Brasil, o manejo do parto inclui mais pronta indicação de cesariana. Na verdade, esta tendência também é evidente comparando com casos mais antigos na mesma instituição ^{MERÇON DE VARGAS 1992} (veja seção 1.3.4).

A ocorrência de FIR variou significativamente conforme o estágio da CAM por HP nos grupos HCT e PIV: estágio 1 em 0,4%, estágio 2 em 0,6% e estágio 3 em 1,3% do total de casos. Analisando somente os 184 casos positivos (100%) para CAM no HP, observou-se FIR em 3,3% dos casos no estágio 1, 4,9% no estágio 2 e 10,3% no estágio 3 (gráfico 6).

A ocorrência de FIR variou também conforme o grau da CAM por HP nos grupos HCT e PIV: grau 1 em 0,6%, grau 2 em 1,3% e grau 3 em 0,6% do total de casos. Analisando somente os 184 casos positivos (100%) para CAM no HP, observou-se

FIR em 4,3% dos casos grau 1, 9,8% dos casos grau 2 e 4,3% dos casos grau 3 (gráfico 7).

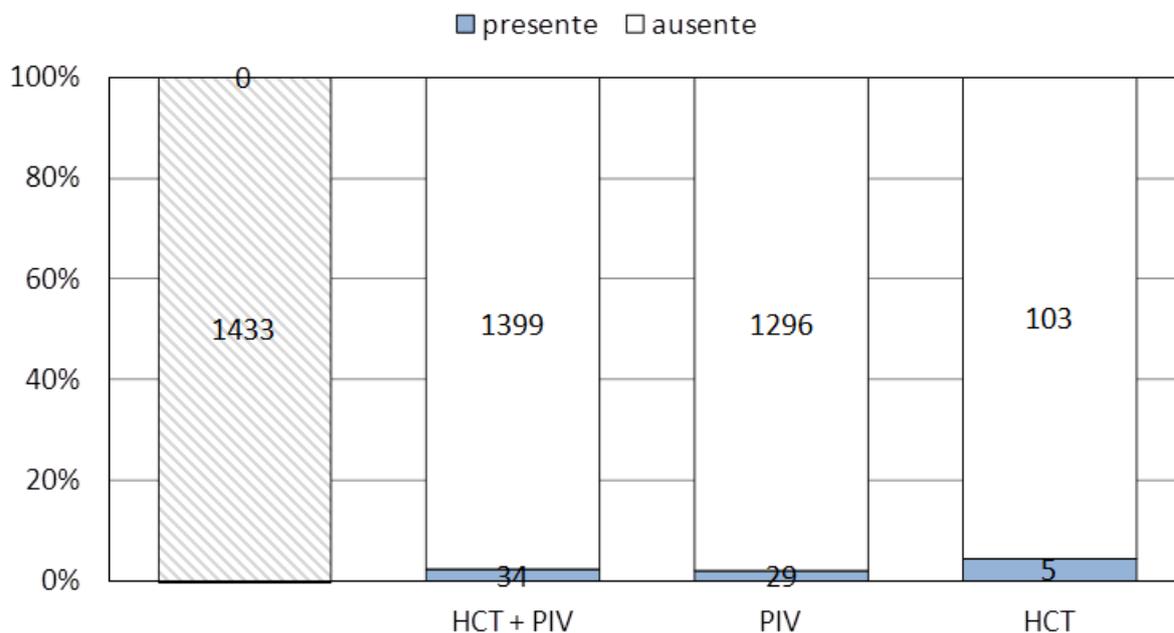


Gráfico 5 - Ocorrência de FIR nos grupos HCT e PIV

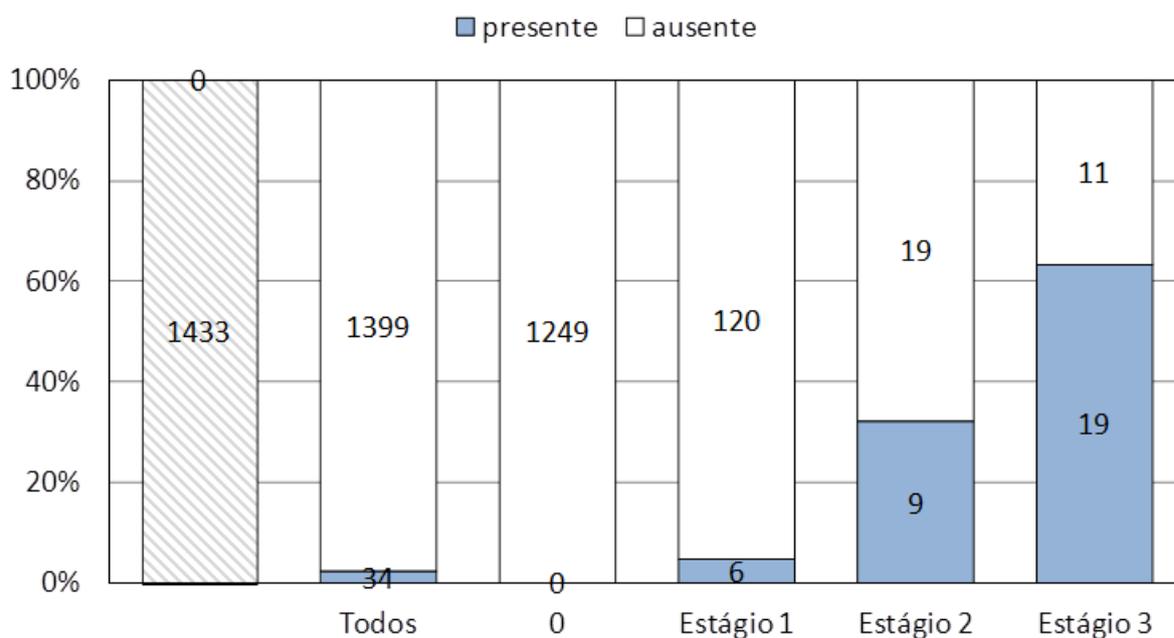


Gráfico 6 - Ocorrência de FIR segundo o estágio da CAM HP nos grupos HCT e PIV

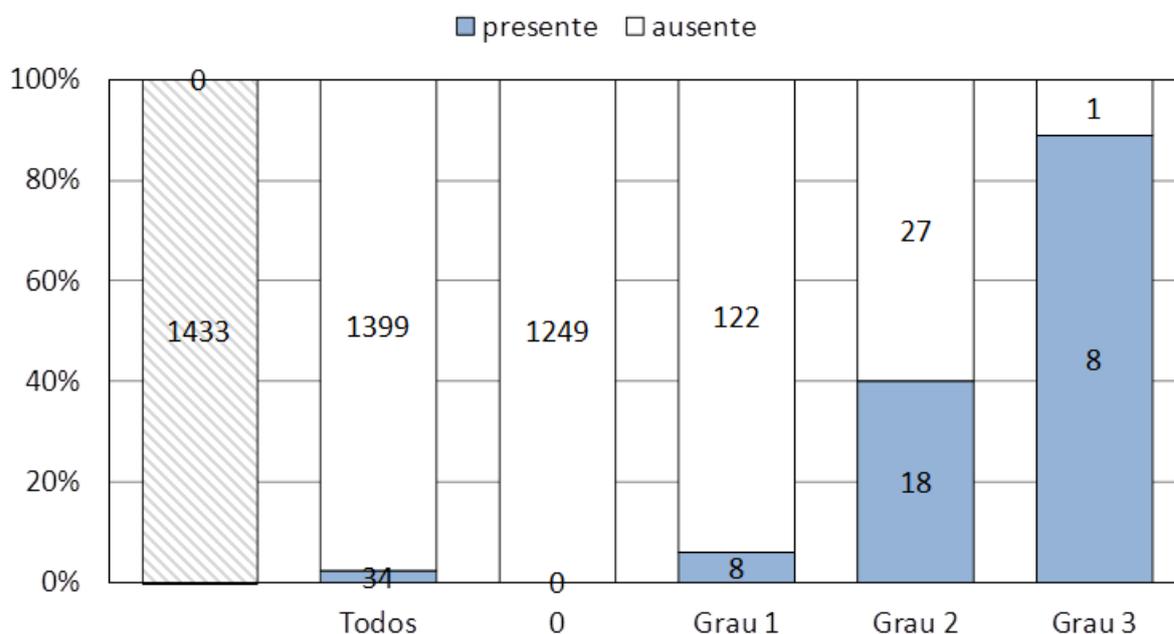


Gráfico 7 - Ocorrência de FIR segundo o grau da CAM HP nos grupos HCT e PIV

4.3.3- Ocorrência de CAM pelo EECP

A ocorrência de CAM pelo EECP nos três grupos considerados em conjunto foi 14,2% (IC 95%: 12,5 a 15,9), no grupo HCT 41,7%, no grupo HIB 31,1% e no grupo PIV 9,5%. Comparativamente, conforme mostrado no gráfico 1, a ocorrência determinada pela HP, foi de 12,8% (IC 95%: 11,1 a 14,5).

Considerando que existência de exsudato de PMN neutrófilos foi o critério diagnóstico de CAM empregado em ambos os métodos, que se trata de achado pouco sujeito a erro de observação e que o EECP pode ser considerado uma ampliação da amostra do cório placentário, a real ocorrência de CAM seria a calculada pela “soma” (ou por EECP ou por HP) do número de casos com exsudato em cada método. Assim, a real ocorrência de CAM seria 19,9% no conjunto dos casos (HCT, HIB e PIV), 56,5% no grupo HCT e 15,2% no grupo PIV, representando um incremento de 5,7%, 14,8% e 5,7%, respectivamente, em relação à análise do EECP isoladamente e um incremento de 7,0%, 25,0% e 3,9% em relação à análise do HP isoladamente (tabela 4 e gráficos 1 e 8). Exceto pelo grupo HCT (no qual se observou grande incremento), o significado deste pequeno aumento em relação à

HP indica que o EECp poderia ser empregado como método alternativo, mais rápido e de menor custo para aferição da ocorrência de CAM.

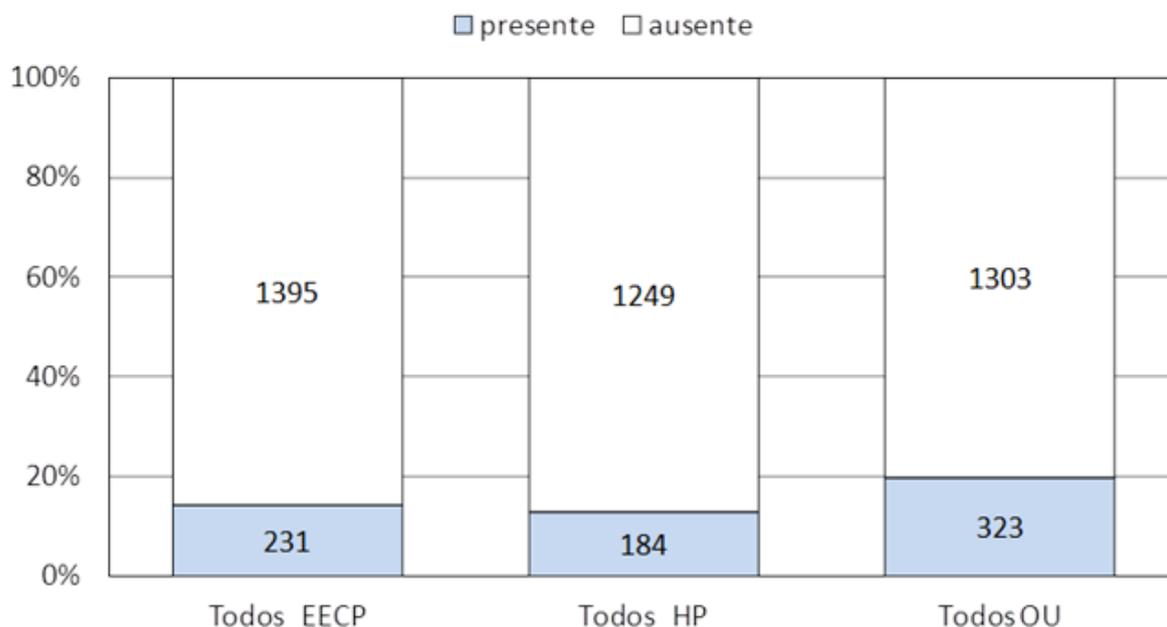


Gráfico 8 - Comparação da ocorrência de CAM por EECp, HP e EECp ou HP nos vários grupos do estudo

A ocorrência de FIR nos casos com CAM pelo EECp foi 11,7% e nos casos sem CAM pelo EECp apenas 1,1% (gráfico 9). O grau de CAM pelo EECp pôde ser analisado em 1322 casos (99,8%) do grupo PIV e observou-se que a ocorrência de FIR variou conforme o grau da CAM pelo EECp: grau 1 em 0,2% , grau 2 em 0,5% e grau 3 em 0,5% do total dos 1322 casos. Analisando-se somente os casos CAM positivos pelo EECp do grupo PIV (126 casos), percebeu-se que a ocorrência de FIR também variou conforme o grau da CAM pelo EECp: grau 1 em 4,9%, grau 2 em 2,4% e grau 3 em 5,7% dos casos (gráfico 10). FIR foi observada 30,8 vezes mais nos casos de CAM graus 2 e 3 pelo EECp que na ausência ou grau 1 (RV+: 27,6), correspondendo a 1 caso de FIR a cada 2 casos de CAM graus 2 ou 3 pelo método do EECp (gráfico 11).

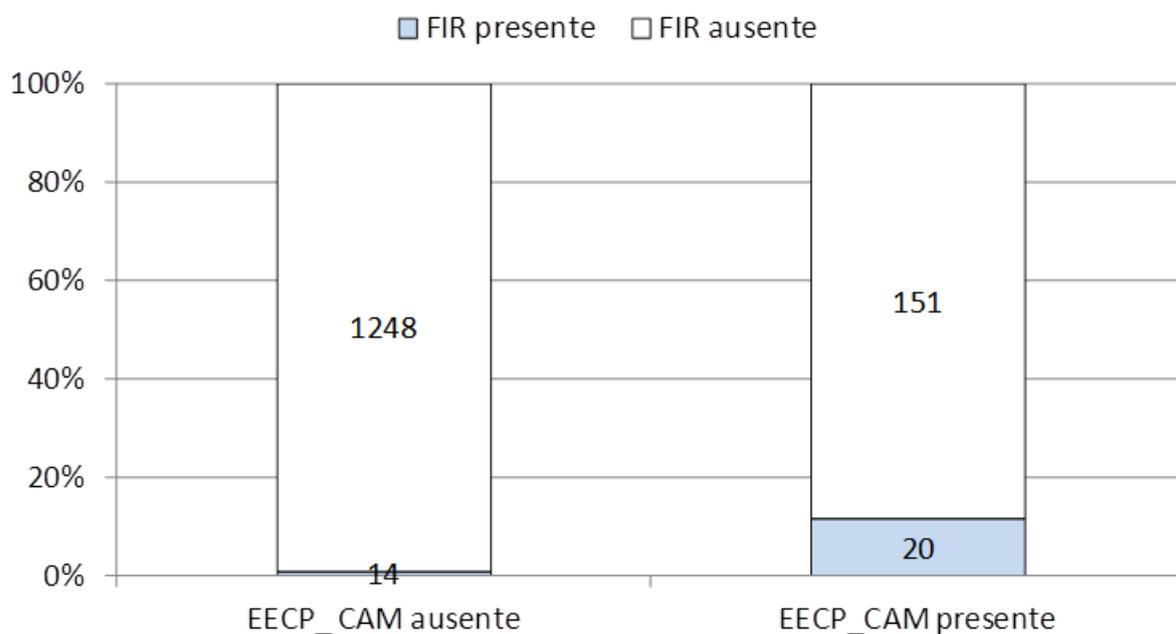


Gráfico 9 - Ocorrência de FIR segundo a existência de CAM por EECP nos grupos HCT e PIV

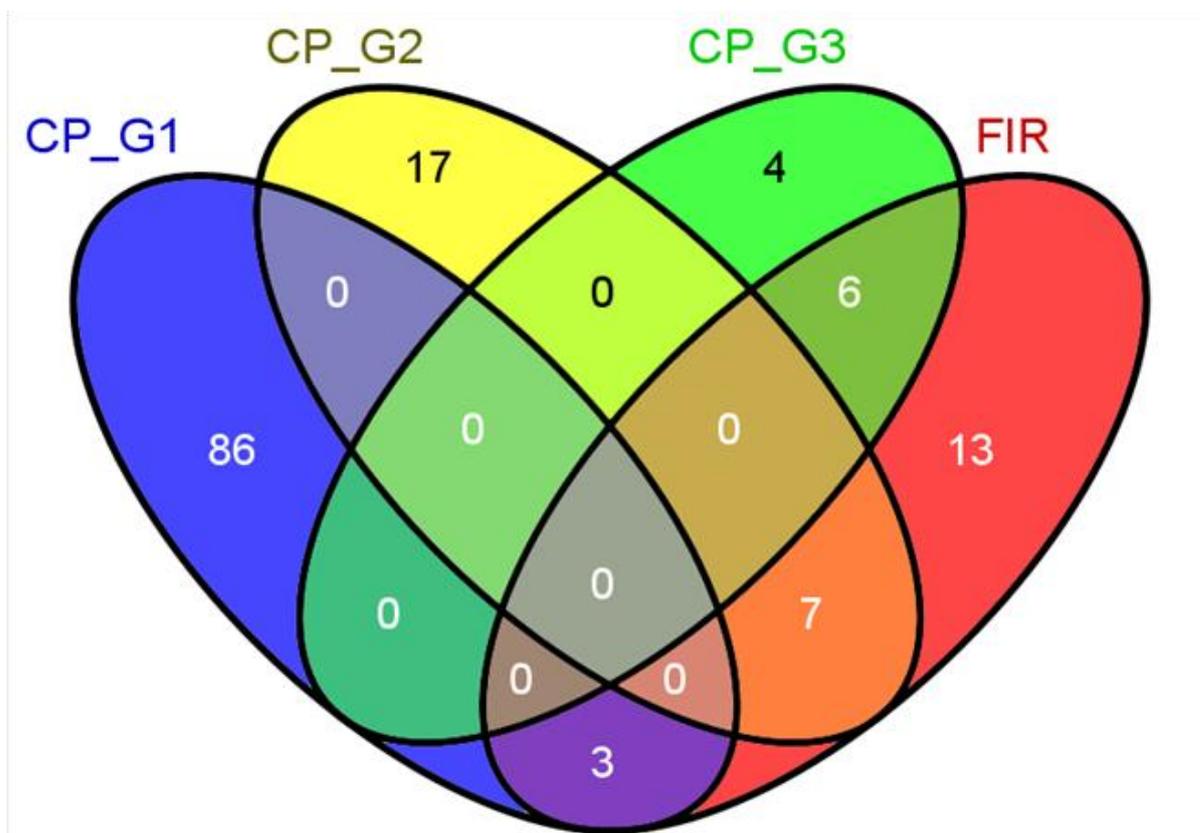


Gráfico 10 - Distribuição da existência de FIR segundo o grau da CAM por EECP no grupo PIV

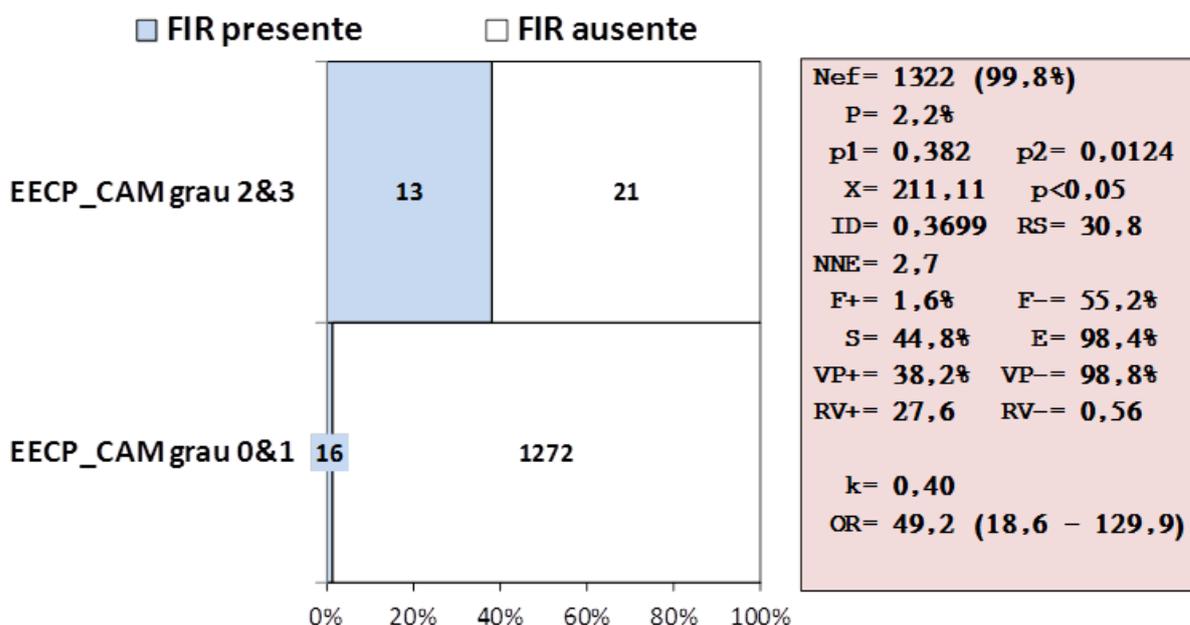


Gráfico 11 - Índices de contraste do diagnóstico de CAM por EECP e FIR segundo o grau do exsudato no EECP no grupo PIV

4.4- Estudo da concordância entre o EECP e a HP

A concordância entre o diagnóstico de CAM pelo EECP e pela HP convencional foi analisada através dos índices de acordo e discrepância, no conjunto dos casos com HP (HCT e PIV) e de acordo com o grupo do estudo, tipo de espécime, número de lâminas, celularidade, estágio e grau da CAM e origem do exsudato inflamatório de CAM e está apresentada nas tabelas 5 a 7 e nos gráficos 12 a 14.

4.4.1- Concordância entre os métodos no conjunto dos casos

No conjunto dos casos, considerando o diagnóstico pela HP, o diagnóstico de CAM pelo EECP foi concordante em 88,1% e discrepante em 11,9% (*kappa*: 0,45, IC 95%: 9,7 a 22,6), com EECP diagnosticando menos CAM em 92 casos (6,4%) e mais CAM em 79 casos (5,5%) (tabela 5 e gráficos 12 e 13). Este grau de acordo classifica-se como razoável pelos critérios de Landis & Koch¹⁹⁷⁷. Mas esta não é uma análise adequada, porque o EECP não pretende diagnosticar CAM estágio 1, razão

pela qual a análise foi estratificada de acordo com as categorias do espectro nosológico da CAM.

Tabela 5 - Índices de concordância entre o diagnóstico de CAM por EECp e por HP nos grupos HCT e PIV

Histopatologia		f	Ocor	EECP-&HP+	EECP+&HP+ EECP-&HP-	EECP+&HP-	k
Grupos HCT & PIV (n= 1433)							
	HP_CAM+	HP_CAM-					
EECP_CAM+	92	79	53,8				
EECP_CAM-	92	1170	7,3	12,8	6,4	88,1	5,5
	HP_CAM E2&3	HP_CAM E0&1					
EECP_CAM+	36	135	21,1				
EECP_CAM-	22	1240	1,7	4,0	1,5	89,0	9,4
	HP_CAM G2&3	HP_CAM G0&G1					
EECP_CAM+	32	139	18,7				
EECP_CAM-	22	1240	1,7	3,8	1,5	88,8	9,7
	HP_FIR +	HP_FIR -					
EECP_CAM+	20	151	11,7				
EECP_CAM-	14	1248	1,1	2,4	1,0	88,5	10,5

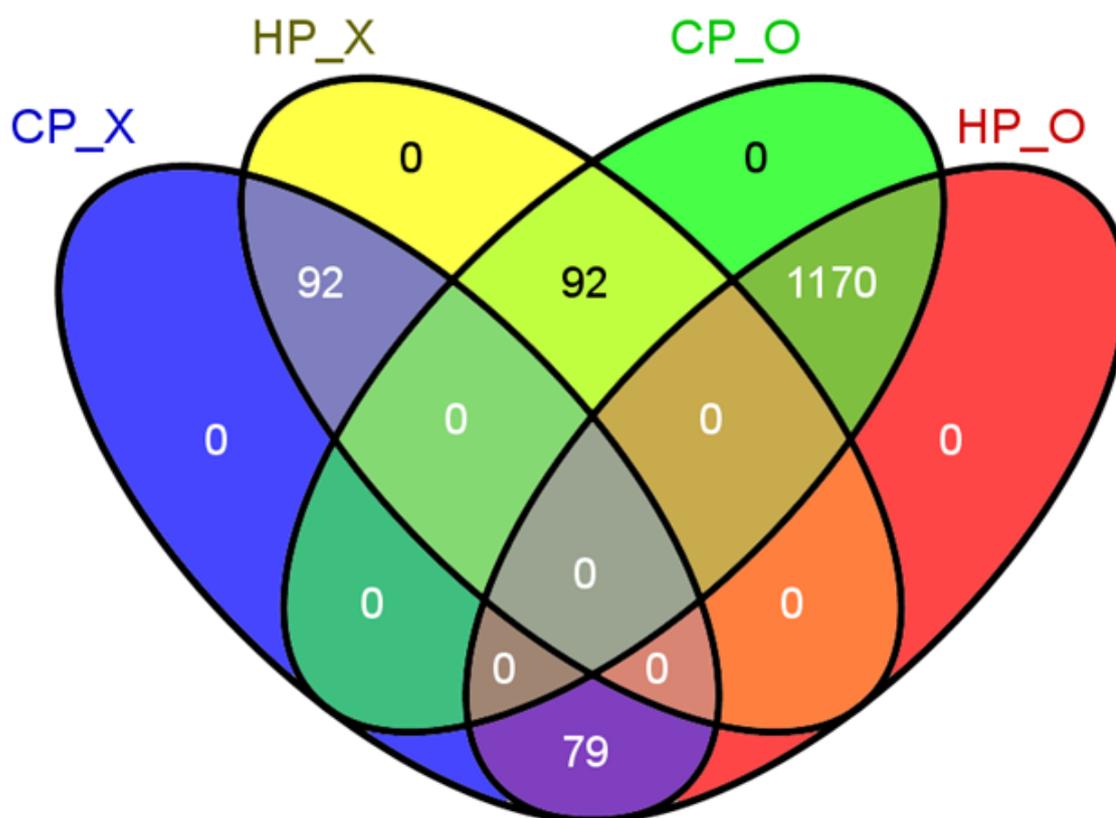


Gráfico 12 - Existência de CAM nos grupos HCT e PIV, por EECp e HP

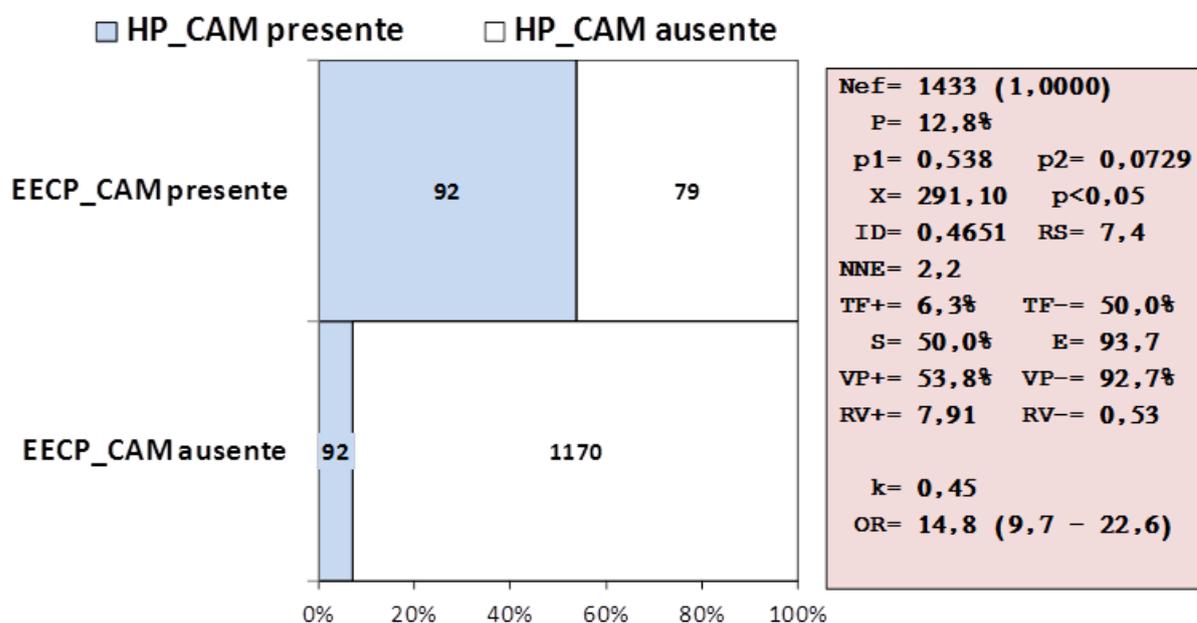


Gráfico 13 - Índices de contraste do diagnóstico de CAM por EECP e por HP nos grupos HCT e PIV

4.4.2- Variação da concordância conforme o espectro da CAM

Ocorrência. Para verificar se os índices de concordância seriam diferentes conforme a ocorrência de CAM, esperando maior concordância com maior ocorrência, analisou-se a concordância no grupo HCT (CAM: 31,5%) e no grupo PIV (CAM: 11,3%) (tabela 6). No grupo HCT, observou-se acordo em 60,2% e discrepância em 39,8% (*kappa*: 0,15, IC 95%: 0,8 a 5,0), menos diagnóstico em 14,8% e mais diagnóstico de CAM pelo EECP em 25,0%, valores menores que os observados no grupo PIV: acordo em 90,3% e discrepância em 9,7% (*kappa*: 0,48, IC 95%: 12,9 a 34,1), menos diagnóstico em 5,7% e mais diagnóstico de CAM pelo EECP em 3,9%.

Topografia da CAM. Limitando a análise aos casos com exsudato apenas na placenta (casos com exsudato apenas nas MEP excluídos), naturalmente, melhora a concordância. Todavia, poucos casos apresentavam apenas exsudato nas MEP (gráfico 2).

Tabela 6 - Índices de concordância entre o diagnóstico de CAM por EECF e por HP nos grupos HCT e PIV

Histopatologia	f	Ocor	EECF-&HP+	EECF+&HP+ EECF-&HP-	EECF+&HP-	k
Grupo HCT (n= 108)						
	HP_CAM+	HP_CAM-				
EECF_CAM+	18	27	40,0			
EECF_CAM-	16	47	25,4	31,5	14,8	60,2
						25,0
						0,15
	HP_CAM E2&3	HP_CAM E0&1				
EECF_CAM+	6	39	13,3			
EECF_CAM-	1	62	1,6	6,5	0,9	63,0
						36,1
						0,13
	HP_CAM G2&3	HP_CAM G0&G1				
EECF_CAM+	6	39	13,3			
EECF_CAM-	1	62	1,6	6,5	0,9	63,0
						36,1
						0,13
	HP_FIR +	HP_FIR -				
EECF_CAM+	4	41	8,9			
EECF_CAM-	1	62	1,6	4,6	0,9	61,1
						38,0
						0,08
Grupo PIV (n= 1325)						
	HP_CAM+	HP_CAM-				
EECF_CAM+	74	52	58,7			
EECF_CAM-	76	1123	6,3	11,3	5,7	90,3
						3,9
						0,48
	HP_CAM E2&3	HP_CAM E0&1				
EECF_CAM+	30	96	23,8			
EECF_CAM-	21	1178	1,8	3,8	1,6	91,2
						7,2
						0,30
	HP_CAM G2&3	HP_CAM G0&G1				
EECF_CAM+	26	110	19,1			
EECF_CAM-	21	1178	1,8	3,5	1,6	90,2
						8,2
						0,24
	HP_FIR +	HP_FIR -				
EECF_CAM+	16	100	13,8			
EECF_CAM-	13	1186	1,1	2,2	1,0	91,4
						7,6
						0,19
	HP_CAM+	HP_CAM-				
EECF_CAM G2&3	27	7	79,4			
EECF_CAM G0&1	122	1166	9,5	11,3	9,2	90,2
						0,5
						0,26
	HP_CAM E2&3	HP_CAM E0&1				
EECF_CAM G2&3	20	14	58,8			
EECF_CAM G0&1	31	1257	2,4	3,9	2,3	96,6
						1,1
						0,45
	HP_CAM G2&3	HP_CAM G0&G1				
EECF_CAM G2&3	18	16	52,9			
EECF_CAM G0&1	29	1259	2,3	3,6	2,2	96,6
						1,2
						0,43
	HP_FIR +	HP_FIR -				
EECF_CAM G2&3	13	21	38,2			
EECF_CAM G0&1	16	1272	1,2	2,2	1,2	97,2
						1,6
						0,40

Estágio da CAM por HP. Comparando os casos de CAM nos estágios 2 e 3 com ausência ou CAM estágio 1 por HP (tabelas 5 e 6 e gráfico 14), melhoram os índices de concordância: acordo em 89% e discrepância em 11,0% (*kappa*: 0,27, IC 95%: 7,9 a 28,5), menos diagnóstico em 1,5% e mais diagnóstico de CAM pelo EECP em 9,4%.

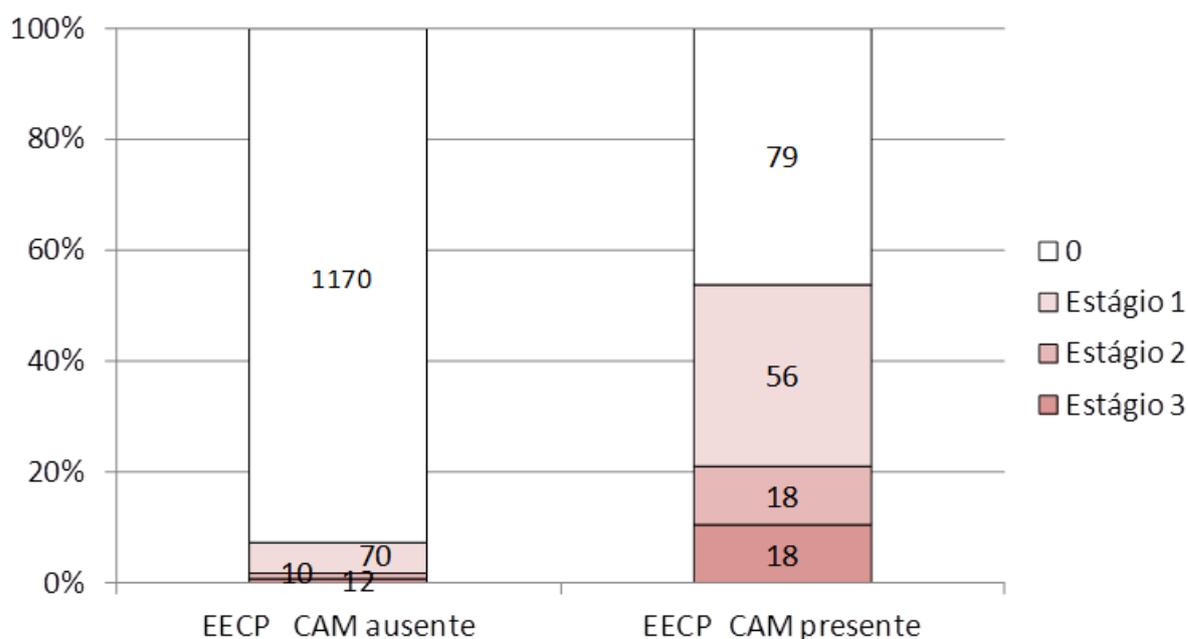


Gráfico 14 - Estágios da CAM HP segundo a existência de CAM por EECP nos grupos HCT e PIV

Grau da CAM por HP. Comparando os casos de CAM graus 2 e 3 com ausência ou grau 1 por HP, em que o exsudato inflamatório é maior e, presumivelmente, seriam mais diagnosticados pelo EECP, não se observou melhora significativa dos índices de concordância: acordo em 88,8% e discrepância em 11,2% (*kappa*: 0,24, IC 95%: 6,8 a 24,9), menos diagnóstico em 1,5% e mais diagnóstico pelo EECP em 9,7% (tabelas 5 e 6).

Grau da CAM por EECP. Para verificar se a quantidade de exsudato inflamatório no EECP, indicador de CAM mais grave ou antiga, portanto, casos em que se deveria esperar mais concordância, categorizou-se os casos com EECP, no grupo PIV, em muito exsudato (graus 2 e 3) e pouco ou nenhum exsudato. A concordância foi melhor: acordo em 90,2% e discrepância em 9,7% (*kappa*: 0,26, IC 95%: 13,9 a

97,7), menos diagnóstico em 9,2% e mais diagnóstico de CAM pelo EECP em 0,5% (tabela 6).

Existência de resposta inflamatória fetal. Comparando os casos de CAM com FIR com os casos sem FIR, não se observou melhora significativa dos índices de concordância: acordo em 88,5% e discrepância em 11,5% ($kappa$: 0,16, IC 95%: 5,3 a 26,4), menos diagnóstico em 1,0% e mais diagnóstico de CAM pelo EECP em 10,5% (tabela 5 e gráfico 9).

Tipo de espécime do EECP. O esfregaço amostra mais a camada esponjosa e o laminado mais a camada reticular, portanto, em estágio mais avançado e menos comum da CAM. Empregando o esfregaço, observou-se acordo em 87,5% e discrepância em 12,5% ($kappa$: 0,50, IC 95%: 7,2 a 39,9), menos diagnóstico em 6,1% e mais diagnóstico de CAM em 6,4%, valores de magnitude não diferentes daqueles observados para o laminado: acordo em 90,9% e discrepância em 9,0% ($kappa$: 0,47, IC 95%: 11,7 a 41,2), menos diagnóstico em 5,8% e mais diagnóstico de CAM em 3,2% (tabela 7).

Tabela 7 - Índices de concordância entre o diagnóstico de CAM pelo espécime do EECP e por HP segundo características do espécime do EECP

Histopatologia		f	Ocor	EECP-&HP+	EECP+&HP+ EECP-&HP-	EECP+&HP-	k
Esfregaço (n= 313)							
	HP_CAM+	HP_CAM-					
EECP_CAM+	26	20	56,5				
EECP_CAM-	19	248	7,1	14,4	6,1	87,5	6,4
							0,50
Laminado (n= 895)							
	HP_CAM+	HP_CAM-					
EECP_CAM+	43	29	59,7				
EECP_CAM-	52	771	6,3	10,6	5,8	90,9	3,2
							0,47
Celularidade do CP (n= 1117)							
	HP_CAM+	HP_CAM-					
EECP 2&3	115	890	11,4				
EECP 1	7	105	6,3	10,9	0,6	19,7	79,7
							0,01

Celularidade do espécime do EECP. Como a concordância diagnóstica deveria ser tanto melhor quanto mais celular a amostra empregada no EECP, analisou-se esta concordância segundo a celularidade do cório. Observou-se piora dos índices de

concordância: acordo em 19,7% e discrepância em 80,3% ($kappa$: 0,01), porém com menos diagnóstico em 0,6% e mais diagnóstico pelo EECp em 79,7%. Estes resultados parecem indicar que a celularidade, como foi aferida, não é um bom indicador da qualidade do espécime (tabela 7).

4.5- Índices de valor diagnóstico do EECp

Os índices de valor diagnóstico de EECp foram calculados considerando o diagnóstico de CAM pela HP como teste-ouro tanto no conjunto dos casos com HP (HCT e PIV) como segundo as categorias do espectro nosológico (tabelas 8 a 11).

4.5.1- Índices de valor diagnóstico do EECp no conjunto dos casos

Nesta análise, o diagnóstico de CAM pelo EECp foi comparado com o diagnóstico de CAM de qualquer estágio ou grau nos grupos HCT e PIV (tabela 8 e gráfico 13)

Dentre os vários índices de contraste entre proporções^{FEINSTEIN 2002}, foram analisados o incremento direto (ID), número necessário para o efeito (NNE), razão simples (RS), taxas de falso negativo (TF+) e positivo (TF-), sensibilidade (S), especificidade (E), valores preditivos positivo (VP+) e negativo (VP-) e razões de verossimilhança positiva (RV+) e negativa (RV-). Adicionalmente, calculou-se o ganho de conhecimento com o teste, como se faz em EBM^{SACKETT et. al. 2000}.

Incremento direto. CAM por HP foi mais comum nos casos de EECp positivos para CAM (EECP+): 53,8% *versus* 7,3%, ID: 46,5%, NNE: 2,2 e RS: 7,4, indicando contraste de grande magnitude.

Taxas de falso negativo e positivo: O EECp tem TF+ pequena (6,3%), mas TF- grande (50,0%), indicando que o método pode não diagnosticar todos os casos de CAM.

Sensibilidade e especificidade. O EECp diagnóstica apenas 50% das CAM e 93,7% dos casos sem CAM por HP. Estes valores, considerados em uma perspectiva pré-teste, indicariam o emprego do EECp mais para excluir que para incluir o diagnóstico de CAM.

Valores preditivos positivo e negativo. Um diagnóstico de CAM por EECp corresponde a 53,8% das CAM por HP, favorecendo esta possibilidade diagnóstica (*rule in* como se diz em EBM)^{SACKETT 2000} e favorece excluir esta possibilidade diagnóstica (*rule out*) em 92,7% dos casos. Estes valores, considerados em uma perspectiva pós-teste,^{FLETCHER et. al. 1989} mais aplicável clinicamente,^{SACKETT et al 2000, FEINSTEIN 2002} significam que o EECp é mais útil para excluir que para incluir a possibilidade de CAM.

Razões de verossimilhança positiva e negativa. Um diagnóstico de CAM por EECp aumenta em 7,9 vezes a chance de ser CAM, valor superior a 5, indicando bom teste diagnóstico^{FEINSTEIN 2002, SACKETT 2000, FRIEDLANDER 1998}.

Em resumo, estes indicadores mostram que, em relação com o padrão-ouro, o EECp não é um teste perfeito, mas pode contribuir para o manejo clínico, sobretudo por sua grande especificidade e RV+.

4.5.2- Variação dos índices de valor diagnóstico conforme o espectro da CAM

Embora muitos índices de valor diagnóstico tenham sido calculados (tabelas 8 a 11), para simplificar, atendendo a recomendação de Feinstein²⁰⁰² e da EBM^{SACKETT 2000, FRIEDLANDER et. al. 1998}, as comparações foram avaliadas apenas pelo VP+, RV+ e GC.

Ocorrência. A maior ocorrência de CAM associou-se com menores valores de VP+, RV+ e GC (HCT) que menor ocorrência (PIV).

Estágio da CAM por HP. Estágios 2 e 3 de CAM associaram-se com menores valores de VP+, RV+ e GC do que CAM estágio 1 por HP.

Grau da CAM por HP. Graus 2 e 3 de CAM associaram-se com menores valores de VP+, RV+ e GC do que CAM grau 1 por HP.

Grau da CAM por EECP. Um maior grau de exsudato do EECP associou-se com maiores valores de VP+, RV+ e GC do que CAM grau 1 por EECP.

Existência de resposta inflamatória fetal. A presença de FIR por HP associou-se com menores valores de VP+, RV+ e GC do que sua ausência.

Tipo de espécime do EECP. Laminados do CP associaram-se com melhores valores de VP+, RV+ e GC do que esfregaços para o diagnóstico de CAM por HP.

Celularidade do espécime do EECP. Espécimes do EECP com menor celularidade associaram-se com muito menores VP+, RV+ e GC do que espécimes com maior celularidade.

Estes resultados indicam que o valor diagnóstico do EECP varia com o espectro nosológico - como era de se esperar - e são inerentes a uma doença espectral como a CAM. Os achados relevantes quanto à qualidade do método são que o laminado é um pouco melhor que o esfregaço e que não se deve considerar satisfatório um espécime com poucas células, ou seja, a amostra deve representar melhor a camada reticular.

Tabela 8 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM por EECp e por HP nos grupos HCT e PIV

Histopatologia		f	Prev	GC	ID	NNE	RS	TF+	TF-	S	E	VP+	VP-	RV+	RV-	OR
Grupos HCT & PIV (n= 1433)																
	HP_CAM+	HP_CAM-														
EECP_CAM+	92	79	53,8													14,8
EECP_CAM-	92	1170	7,3	12,8	41,0	46,5	2,2	7,4	6,3	50,0	50,0	93,7	53,8	92,7	7,9	0,5 (9,7 a 22,6)
	HP_CAM E2&3	HP_CAM E0&1														
EECP_CAM+	36	135	21,1													15,0
EECP_CAM-	22	1240	1,7	4,0	35,4	19,3	5,2	12,1	9,8	37,9	62,1	90,2	21,1	98,3	6,3	0,4 (7,9 a 28,5)
	HP_CAM G2&3	HP_CAM G0&G1														
EECP_CAM+	32	139	18,7													13,0
EECP_CAM-	22	1240	1,7	3,8	33,6	17,0	5,9	10,7	10,1	40,7	59,3	89,9	18,7	98,3	5,9	0,5 (6,8 a 24,9)
	HP_FIR +	HP_FIR -														
EECP_CAM+	20	151	11,7													11,8
EECP_CAM-	14	1248	1,1	2,4	31,7	10,6	9,4	10,5	10,8	41,2	58,8	89,2	11,7	98,9	5,4	0,5 (5,3 a 26,4)

Tabela 9 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM por EECF e por HP no grupo HCT

Histopatologia		f	Prev	GC	ID	NNE	RS	TF+	TF-	S	E	VP+	VP-	RV+	RV-	OR	
Grupo HCT (n= 108)																	
	HP_CAM+	HP_CAM-															
EECP_CAM+	18	27	40,0													2,0	
EECP_CAM-	16	47	25,4	31,5	8,5	14,6	6,8	1,6	36,5	47,1	52,9	63,5	40,0	74,6	1,5	0,7	(0,8 a 5,0)
	HP_CAM E2&3	HP_CAM E0&1															
EECP_CAM+	6	39	13,3													9,5	
EECP_CAM-	1	62	1,6	6,5	19,0	11,7	8,5	8,4	38,6	14,3	85,7	61,4	13,3	98,4	2,2	0,2	(0,8 a 112,1)
	HP_CAM G2&3	HP_CAM G0&G1															
EECP_CAM+	6	39	13,3													9,5	
EECP_CAM-	1	62	1,6	6,5	19,0	11,7	8,5	8,4	38,6	14,3	85,7	61,4	13,3	98,4	2,2	0,2	(0,8 a 112,1)
	HP_FIR +	HP_FIR -															
EECP_CAM+	4	41	8,9													6,0	
EECP_CAM-	1	62	1,6	4,6	16,5	7,3	13,7	5,6	39,8	20,0	80,0	60,2	8,9	98,4	2,0	0,3	(0,5 a 77,2)

Tabela 11 - Índices de contraste entre o diagnóstico de CAM pelo espécime do EECP e por HP nos grupos, segundo características do espécime do EECP

Histopatologia		f	Prev	GC	ID	NNE	RS	TF+	TF-	S	E	VP+	VP-	RV+	RV-	OR (95% IC)
Esfregaço (n= 313)																
	HP_CAM+	HP_CAM-														
EECP_CAM+	26	20	56,5													17,0
EECP_CAM-	19	248	7,1	14,4	42,1	49,4	2,0	7,9	7,5	42,2	57,8	92,5	56,5	92,9	7,7	0,5 (7,2 a 39,9)
Laminado (n= 895)																
	HP_CAM+	HP_CAM-														
EECP_CAM+	43	29	59,7													22,0
EECP_CAM-	52	771	6,3	10,6	49,1	53,4	1,9	9,5	3,6	54,7	45,3	96,4	59,7	93,7	12,5	0,6 (11,7 a 41,2)
Celularidade do CP (n= 1117)																
	HP_CAM+	HP_CAM-														
EECP 1	7	105	6,3													0,5
EECP 2&3	115	890	11,4	10,9	-4,7	-5,2	-19,3	0,5	10,6	94,3	5,7	89,4	6,3	88,6	0,5	1,1 (0,8 a 4,8)

4.6- Limitações do estudo e do método

4.6.1- Limitações do estudo

Duas limitações do estudo merecem registro: as possibilidades de efeito Hawthorne e viés de espectro.

Efeito Hawthorne. Efeito Hawthorne designa o impacto do aumento da atenção com que é feita uma tarefa (observação do exsudato) no seu resultado (*performance*) pelo agente (patologista)^{FEINSTEIN 1985}. Isso ocorre porque a motivação e desejo de obter certo resultado aumenta a atenção e o esforço e, conseqüentemente, determina melhor execução do exame. Pode-se argumentar que todo procedimento médico deveria ser feito com o máximo de atenção e que pelo menos um estudo já demonstrou que este efeito melhora a qualidade do procedimento^{LIED & KAZANDJIAN 1998}. Todavia *-reductio ad infinitum-* dar o máximo de atenção a tudo equivale a não dar atenção a nada, como sabem todos os diagnosticadores. Embora haja estratégias para minimizar este efeito, como forçar o exame com a atenção habitual, elas não foram empregadas no presente estudo, de modo que este efeito não pode ser excluído.

Efeito e viés de espectro. Um efeito de espectro é definido como as diferenças na sensibilidade e especificidade de um teste diagnóstico de acordo com as características dos pacientes ou das doenças. O efeito de espectro pode levar a viés de espectro quando variações de sensibilidade ou especificidade também afetam a RV e a probabilidade pós-teste^{RANSOHOFF & FEINSTEIN 1978, FEINSTEIN 2002, ELIE et. al. 2008}. No presente estudo, há relativamente poucos casos de CAM estágio 3 e com FIR e muito mais casos de CAM estágio 1, indicando um viés para CAM mais precoces ou por microrganismos menos agressivos, a despeito da grande prevalência de CAM no grupos HCT e HIB. Entretanto, isto é esperado e comum em todos os estudos de grandes séries de CAM e decorre da tendência para ultimar precocemente o parto. Ademais, tendo se provado adequado para diagnóstico dos casos menos graves, o EECp pode diagnosticar ainda melhor CAM mais avançadas e com FIR.

4.6.2- Limitações do método EECP

Empregando apenas amostra do cório placentário, o EECP pode diagnosticar as CAM estágio 2 na placenta mas não CAM estágio 1 (intervilosite subcorial), CAM limitada às MEP e FIR, de modo que subdiagnóstico de CAM, está implícito no próprio método. Sua real contribuição não é diagnosticar todos os casos, mas diagnosticar a maioria e os mais graves em menos tempo e poder ser realizado a tempo de orientar a conduta clínica. Entretanto, os resultados deste estudo mostraram que o EECP, por aumentar a amostra de cório examinada microscopicamente, pode aumentar o diagnóstico de CAM de qualquer estágio.

Como amostra do CP, evidentemente o EECP não pode diagnosticar FIR, um diagnóstico que exige demonstração de vasculite alantocorial ou umbilical. Mas, diagnosticando os casos dos estágios 2 e 3, o EECP, indiretamente revela os casos com maior probabilidade de FIR (FIR está presente em 32,1% dos casos de CAM no estágio 2 e em 63,3% dos casos de CAM no estágio 3) e os de menor probabilidade (FIR está presente em apenas 4,8% dos casos de CAM no estágio 1) (gráfico 3). Quase nenhuma FIR foi observada nos casos sem CAM por EECP. Ainda assim, o ideal seria que todo caso de CAM por EECP fosse complementado por exame imediato do cordão umbilical, através de cortes em criostato (exame por congelação)^{BENIRSCHKE & CLIFFORD 1959}. Ademais, casos de FIR diagnosticada por vasculite alantocorial ou umbilical sem resposta materna não foram observados neste estudo, mas têm sido relatados em outros estudos^{MERÇON DE VARGAS 1992, REDLINE et. al. 2005}, provavelmente constituindo variação amostral ou erros de observação.

4.7- Sumários dos achados do estudo

No presente estudo, o diagnóstico de CAM pelo de EECP (mais rápido) foi comparado com o diagnóstico por histopatologia convencional (mais demorado), considerado o padrão-ouro para o diagnóstico de CAM. Especificamente, pretendeu-se verificar quantas e quais categorias do espectro nosológico da CAM ficariam sem diagnóstico se apenas o EECP fosse empregado.

Estes objetivos e resultados podem ser explicitados sob a forma das seguintes perguntas e respostas:

Quantos casos de CAM permaneceriam sem diagnóstico se apenas o EECP fosse realizado? Considerando o diagnóstico mais inclusivo de CAM (CAM ou por EECP ou por HP), EECP deixaria de diagnosticar 5,7% das CAM.

Por que o EECP não diagnostica o estágio 1 da CAM? Porque, neste estágio, o exsudato inflamatório está limitado à decídua e ao trofoblasto nas MEP ou à camada de Langhans na placenta, estruturas (camadas) não amostradas para exame pelo EECP.

Por que a ocorrência de CAM por EECP é maior que por HP? Porque a amostra do CP empregada no EECP é muito maior do que a empregada na HP convencional revelando mais o exsudato inflamatório.

Quais casos de CAM são diagnosticados pelo EECP? Os mais relevantes clinicamente. A CAM é um doença espectral e o EECP um método indicado para diagnosticar CAM estágios 2 e 3, as faixas do espectro que englobam as CAM com mais tempo de evolução, portanto, os casos que mais se beneficiariam com tratamento a tempo de evitar os desfechos fetais adversos^{REDLINE 2000, 2005 e 2006}. Ainda que certa taxa de resultados falso negativos deva ser esperada, estes, predominantemente constituem casos de CAM estágio 1 ou limitados às MEP, em que o risco de efeitos adversos são menores.

Por que o EECP não diagnostica todos os casos de CAM estágios 2 e 3? Por três motivos: (1)a amostra empregada é pequena ou foi obtida de camada mais próxima do âmnio em caso de estágio 2 inicial (mais precoce); (2)a amostra foi obtida de área do cório sem CAM, presumivelmente mais iniciais, nos quais a distribuição do exsudato não é difusa; (3)erro de observação (falso negativo), não identificando os neutrófilos.

Qual o significado clínico prático do diagnóstico de CAM pelo EECP? Se o resultado for negativo pelo EECP, o clínico deve inferir que há pequena chance de ser CAM (**rule out**). Se o resultado for positivo pelo EECP, o clínico deve inferir que este é um diagnóstico de certeza de CAM (**rule in**).

5 – CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem as seguintes conclusões:

Com relação à casuística estudada:

1. A casuística incluiu casos com variados fatores de risco, prevalência e todo o espectro nosológico da CAM, portanto adequada para o presente estudo.

Com relação à ocorrência de corioamnionite:

2. A ocorrência de CAM nos casos do HUCAM (grupos HCT e HIB) não discrepa da observada em estudos locais anteriores;
3. A ocorrência de CAM foi semelhante nas amostras de corte transversal e de casos examinados por indicação clínica neonatal;
4. A ocorrência de CAM no HUCAM foi maior que nos casos examinados por indicações variadas em laboratório privado;
5. A ocorrência de CAM pelo EECF não discrepa da aferida por HP convencional (padrão-ouro).

Com relação à exequibilidade do EECF:

6. As técnicas de coleta do cório placentário (raspado ou laminação) são de fácil execução, rápidas e resultam espécimes adequados para análise microscópica;
7. A facilidade de coleta e a qualidade dos espécimes não são afetadas pela fixação em formaldeído;
8. A técnica de *squash* propicia melhor distensibilidade e aderência e melhor qualidade final para o exame microscópico que o esfregaço;
9. A laminação com ciano-acrilato propicia espécime maior, com valor diagnóstico semelhante ao esfregaço e ao *squash*;
10. A coloração pela hematoxilina e eosina é mais adequada e rápida, propiciando campos microscópicos mais transparentes que o May-Grunwald-Giemsa, o panóptico e o PAS;

11. O resultado pode ser conhecido em cerca de 30 minutos;
12. O exame é exequível para incorporação na rotina dos laboratórios de Anatomia Patológica.

Com relação ao valor diagnóstico do EEC:

13. A reprodutibilidade é apenas razoável ($k: 0,45$) devido à tendência do EEC de sobrediagnosticar;
14. O acordo entre os diagnósticos de CAM por EEC e HP é superior a 85%, com maior tendência a sobrediagnóstico;
15. A rigor, não há verdadeiro sobrediagnóstico porque o espécime do CP pode ser considerada uma ampliação da amostra final a ser empregada para exame microscópico;
16. O valor diagnóstico do EEC varia pouco com as técnicas de coleta e preparo do espécime do CP;
17. O valor diagnóstico do EEC varia com o espectro nosológico, sendo melhor nos casos mais graves (estágios 2 e 3 e FIR);
18. A categorização do grau de CAM pelo EEC é particularmente eficiente para o diagnóstico dos casos de resposta inflamatória fetal;
19. O EEC tem índices de valor diagnóstico adequados, especialmente grandes especificidade, valor preditivo negativo e razão de verossimilhança positiva, podendo agregar conhecimento ao processo diagnóstico clínico, sobretudo para a exclusão de CAM.

Em resumo, os resultados deste estudo mostraram que o método é exequível, tem bons índices de valor diagnóstico e pode ser útil, nos casos com suspeita clínica, para diagnosticar CAM e orientar a conduta no puerpério e período neonatal imediatos.

6 – PLANOS

Considerando que o estudo corroborou o emprego do EECP como método rápido e eficiente para o diagnóstico imediato de CAM, planeja-se:

1. Continuar o seu emprego como rotina permanente no HUCAM e PAT-AP oferecida aos médicos assistentes como teste para diagnóstico imediato de CAM;
2. Incluir amostra das membranas dependentes;
3. Explorar a possibilidade de amostrar a camada de Langhans para diagnosticar o estágio 1 da CAM;
4. Incorporar o exame do cordão umbilical para diagnosticar FIR nos casos em que for diagnosticado CAM pelo EECP;
5. Divulgar o método para ampliar seu emprego como um recurso útil para obstetras, neonatologistas e patologistas.

Pretende-se, ainda, incluir os casos do ano 2012 cujo exame ainda não estava concluído (grupo PIV), completar os dados clínicos faltantes nos casos do grupo HIB (HUCAM) através de acesso ao prontuário e à base do SINASC da Maternidade do HUCAM e realizar a histopatologia dos casos do grupo HIB. Concluídos estes procedimentos, pretende-se publicar os resultados em eventos científicos e em periódicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Altman DG (1991) Practical statistics for medical research. London: Chapman and Hall.
2. Altshuler G. Placental infection and inflammation. In.: PERRIN, E V D K. Pathology of the placenta. New York: Churchill Livingstone. 1984a. P.141-164.
3. Altshuler G. Pathology of the Placenta. In: Gilbert-Barnes E (Ed.) Potter's Pathology of the Fetus and the Newborn Infant. cap.8, p.241-280. St Louis: Mosby, 1997.
4. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med. 1992 Jun;20(6):864-74.
5. Andrews WW, Goldenberg RL, Faye-Petersen O, Cliver S, Goepfert AR, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth study: polymorphonuclear and mononuclear cell placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23- to 32-week preterm newborn infants. Am J Obstet Gynecol. 2006 Sep;195(3):803-8.
6. Barter RH. Cervical incompetence in pregnancy. Ann N Y Acad Sci. 1962 Sep 29;97:743-5.
7. Batistuta Novaes P. Infecção amniótica em gestantes atendidas em hospitais públicos de Vitória, ES. Estudo da prevalência, fatores de risco, diagnóstico, anatomia patológica e desfecho reprodutivo. Dissertação (Mestrado em Medicina, área de concentração em Doenças Infecciosas), Programa de Pós-Graduação do Núcleo de Doenças Infecciosas, Centro Biomédico da UFES, Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas. Vitória, ES, 2003.
8. Beebe LA, Cowan LD, Altshuler G. The epidemiology of placental features: associations with gestational age and neonatal outcome. Obstet Gynecol. 1996 May;87(5 Pt 1):771-8.
9. Benirschke K, Clifford SH. Intrauterine bacterial infection of the newborn infant: frozen sections of the cord as an aid to early detection. J Pediatr. 1959 Jan;54(1):11-8.
10. Benirschke K, Kaufmann P & Baergen R. The pathology of the human placenta. 5rd ed. New York: Springer-Verlag, 2006.
11. Benirschke K. Examination of the placenta. Obstet Gynecol. 1961 Sep;18(3).
12. Bergström S. Infection related morbidities in the mother, fetus on neonate. J Nutr, 2003 133:1656S – 1660S.
13. Blackwell S, Romero R, Chaiworapongsa T, Kim YM, Bujold E, Espinoza J, Camacho N, Hassan S, Yoon BH, Refuerzo JS. Maternal and fetal inflammatory responses in unexplained fetal death. J Matern Fetal Neonatal Med. 2003 Sep;14(3):151-7.

14. Blair E, Liu Y, Cosgrove P. Choosing the best estimate of gestational age from routinely collected populationbased perinatal data. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2004;18:270–276.
15. Blanc WA. [Amniotic and neonatal infection; quick cytodiagnosis]. *Gynaecologia.* 1953 Aug;136(2):100-10. Undetermined Language.
16. Blanc WA. Amniotic infection syndrome; pathogenesis, morphology, and significance in circumnata mortality. *Clin Obstet Gynecol.* 1959 Sep;2.
17. Blanc WA. Pathology of the placenta, membranes, and umbilical cord in bacterial, fungal, and viral infections in man. *Monogr Pathol.* 1981;(22):67-132.
18. Blanc, W.A. Pathways of fetal and early neonatal infection. Viral placentitis, bacterial and fungal chorioamnionitis. *J Pediatr.*, 1961; 59(4):473-496.
19. Bourne G. The foetal membranes. A review of the anatomy of normal amnion and chorion and some aspects of their function. *Postgrad Med J.* 1962 Apr;38.
20. Bourne GL. The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol* 1960;79:1070–3.
21. Bruch JF, Bingen E, Fondacci C, Pierin M, Lombrail P, Oury JF, Nessmann C. The value of chorioamniotic plate smears in predicting intraamniotic infection. *Placenta – 1994. Vol. 15 Supplement 1, Pages 177-191.*
22. Dammann O, Leviton A. Role of the fetus in perinatal infection and neonatal brain damage. *Curr Opin Pediatr.* 2000 Apr;12(2):99-104.
23. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, Kim CJ, Erez O, Edwin S, Relman DA. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS One.* 2008 Aug 26;3(8):e3056.
24. Elie C, Coste J and the French Society of Clinical Cytology Study Group. A methodological framework to distinguish spectrum effects from spectrum biases and to assess diagnostic and screening test accuracy for patient populations: Application to the Papanicolaou cervical cancer smear test. *BMC Med Res Methodol.* 2008; 8: 7.
25. Feinstein AR. *Principles of medical statistics.* 1. ed. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, 2002. 701p.
26. Feinstein AR. Taxonrics I. Formulation of Criteria. *Arch Intern Med.* 1970;126(4):679-693.
27. Feinstein AR. Taxonrics II. Formats and Coding Systems for Data Processing. *Arch Intern Med.* 1970;126(6):1053-1067.
28. Feinstein AR. *Clinical epidemiology. The architerture of clinical research.* 1985. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 90-117p.

29. Feitosa ACR. Doença periodontal, infecção cérvico-vaginal e infecção amniótica. 2011. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo -USP, São Paulo, SP, 2011.
30. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. Epidemiologia Clínica - Bases Científicas da Conduta Médica. Porto Alegre: Artes Médicas, 1989. 281p.
31. Fox H, Langley FA. Leucocytic infiltration of the placenta: a clinical-pathological study. J Clin Pathol. 1971 Jul;24(5):480.
32. Fox H. Pathology of the Placenta. 1st London: W. B. Saunders, 1978. 178p.
33. Friedlander D J et al. Medicina baseada em evidências. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, sd (original 1998). 394p.
34. Goldman AS, Schmalstieg FC. The pathogenesis of chorioamnionitis. J Pediatr. 2008 Jul;153(1).
35. Grether JK, Nelson KB. Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal birth weight. JAMA. 1997 Jul 16;278(3):207-11. Erratum in: JAMA 1998 Jan 14;279(2):118.
36. Guzick DS, Winn K. The association of chorioamnionitis with preterm delivery. Obstet Gynecol. 1985 Jan;65(1):11-6.
37. Hans Elias H, Hyde Dallas M. A guide to practical stereology. Basel: New York : Karger, 1983. 305p.
38. Hediger ML, Scholl TO, Schall JI, Miller LW, Fischer RL. Fetal growth and the etiology of preterm delivery. Obstet Gynecol. 1995 Feb;85(2):175-82.
39. Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. N Engl J Med. 1988 Oct 13;319(15).
40. Holzman C, Lin X, Senagore P, Chung H. Histologic chorioamnionitis and preterm delivery. Am J Epidemiol. 2007 Oct 1;166(7).
41. Howard, C.V.; Reed, M. Unbiased Stereology three-dimensional measurement in microscopy, second edition, Garland Science/BIOS Scientific Publisher, 2005.
42. Jessop F, Sebire NJ. Histological chorioamnionitis: current concepts of diagnosis, classification and clinical significance. Fetal and Maternal Medicine Review. 2011 Feb;22.
43. Kérisit. J; Sénécal. J; Fisselier, M.P; Cormier, M; Defawe, G; de Queiroz, F. The extemporaneous histological examination of the umbilical cord. A reliable procedure for evaluating the risk of neo-natal infection (author's transl)]. J Gynecol Obstet Biol Reprod, (Paris);1981,10(1):45-9.

44. Kim CJ, Yoon BH, Kim M, Park JO, Cho SY, Chi JG. Histo-topographic distribution of acute inflammation of the human umbilical cord. *Pathol Int*. 2001 Nov;51(11):861-5.
45. Kim CJ, Yoon BH, Park SH, Chi JG. Histotopographic distribution of placental inflammation: analysis of 22 cases. *J Korean Med Sci*. 1998 Oct;13(5):519-24.
46. Kim CJ, Yoon BH, Romero R, Moon JB, Kim M, Park SS, Chi JG. Umbilical arteritis and phlebitis mark different stages of the fetal inflammatory response. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Aug;185(2):496-500.
47. Kovalovszki L, Veszelyovszky I, Benkó G, Villányi E. Intrauterine growth of infants with chorioamnionitis. *Acta Paediatr Hung*. 1987;28(3-4):229-35.
48. Kraus FT, Redline RW, Gersell DJ, Nelson DM, and Dicke JM, Atlas of Nontumor Pathology: Placental Pathology, AFIP First Series, Fascicle 3, 331 pages, 2004. Mayhew TM. Taking tissue samples from the placenta: an illustration of principles and strategies. *Placenta*. 2008 Jan;29(1):1-14.
49. Landis JR, Koch GG. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. *Biometrics*. 1977 Jun;33(2):363-74.
50. Ledger WJ. Perinatal infections and fetal/neonatal brain injury. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008 Apr;20(2).
51. Lee SD, Kim MR, Hwang PG, Shim SS, Yoon BH, Kim CJ. Chorionic plate vessels as an origin of amniotic fluid neutrophils. *Pathol Int*. 2004 Jul;54(7).
52. Lee SE, Romero R, Jung H, Park CW, Park JS, Yoon BH. The intensity of the fetal inflammatory response in intraamniotic inflammation with and without microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Sep;197(3).
53. Lied TR, Kazandjian VA. A Hawthorne strategy: implications for performance measurement and improvement. *Clin Perform Qual Health Care*. 1998 Oct-Dec;6(4):201-4.
54. Mass SB, Brennan JP, Silverman N, van Hoesen KH. Association between a shift in vaginal flora on Papanicolaou smear and acute chorioamnionitis and preterm delivery. *Diagn Cytopathol*. 1999 Jul;21(1).
55. Mayhew TM. Taking tissue samples from the placenta: an illustration of principles and strategies. *Placenta*. 2008 Jan;29(1):1-14.
56. McLaren J, Malak TM, Bell SC. Structural characteristics of term human fetal membranes prior to labour: identification of an area of altered morphology overlying the cervix. *Hum Reprod*. 1999 Jan;14(1):237-41.
57. Menon R, Fortunato SJ. Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007 Jun;21(3).

58. Merçon-de-Vargas PR, Premoli ACG. Marcadores macroscópicos de corioamnionite. Minas Gerais - Anais do Congresso Brasileiro de Patologia, Belo Horizonte, 1995.
59. Merçon-de-Vargas PR. Contribuição do estudo morfológico dos anexos fetais para o entendimento dos problemas reprodutivos, sobretudo os do III trimestre da gestação humana, em especial quanto ao valor diagnóstico dos achados morfológicos: estudo anátomo-clínico de 962 casos. 1992. Tese (Doutorado em Anatomia Patológica Médica) - Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1992.
60. Modena AB, Fieni S. Amniotic fluid dynamics. *Acta Biomed.* 2004;75 Suppl 1.
61. Naeye R, Petters EC. Amniotic fluid infections with intact membranes leading to perinatal death: a prospective study. *Pediatrics* 1978; 61(2): 171-177.
62. Naeye RL, Tafari N. Risk factors in pregnancy and diseases of the fetus and newborn. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1983. 361 p.
63. Naeye, R.L. Acute bacterial choriomanionitis. Transplacental effects on fetal health. 1988, 281:73-86.
64. Nessmann-Emmanuelli C, Paul G, Amiel-Tison C, Goujard J, Firtion G, Henrion R, Sureau C. [Placental smears in a maternity ward. Importance of early diagnosis of neonatal bacterial infections caused by materno-fetal contamination]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 1983;12(4):373-80. French.
65. Oliveros, J.C. (2007) VENNY. An interactive tool for comparing lists with Venn Diagrams. Disponível em <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>.
66. Pankuch GA, Appelbaum PC, Lorenz RP, Botti JJ, Schachter J, Naeye RL. Placental microbiology and histology and the pathogenesis of chorioamnionitis. *Obstet Gynecol.* 1984 Dec;64(6):802-6.
67. Park CW, Moon KC, Park JS, Jun JK, Romero R, Yoon BH. The involvement of human amnion in histologic chorioamnionitis is an indicator that a fetal and an intra-amniotic inflammatory response is more likely and severe: clinical implications. *Placenta.* 2009 Jan;30(1):56-61.
68. Ransohoff DF, Feinstein AR. Problems of spectrum and bias in evaluating the efficacy of diagnostic tests. *N Engl J Med.* 1978 Oct 26;299(17):926-30.
69. REDE INTERAGENCIAL DE INFORMAÇÕES PARA A SAÚDE. Indicadores e dados básicos para a saúde – 2007 (IDB-2007). Tema do ano: nascimento no Brasil. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2007/tema.pdf>.
70. Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C; Society for Pediatric Pathology, Perinatal Section, Amniotic Fluid Infection Nosology Committee. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr Dev Pathol.* 2003 Sep-Oct;6(5):435-48.

71. Redline RW, Heller D, Keating S, Kingdom J. Placental diagnostic criteria and clinical correlation--a workshop report. *Placenta*. 2005 Apr;26 Suppl A.
72. Redline RW, O'Riordan MA. Placental lesions associated with cerebral palsy and neurologic impairment following term birth. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 Dec;124 (12).
73. Redline RW, Wilson-Costello D, Borawski E, Fanaroff AA, Hack M. The relationship between placental and other perinatal risk factors for neurologic impairment in very low birth weight children. *Pediatr Res*. 2000 Jun;47 (6).
74. Redline RW. Inflammatory responses in the placenta and umbilical cord. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006 Oct;11(5).
75. Romero R, Emamian M, Wan M, Yarkoni S, McCormack W, Mazor M, Hobbins JC. The value of the leukocyte esterase test in diagnosing intra-amniotic infection. *Am J Perinatol*. 1988 Jan;5(1):64-9.
76. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med*. 2007 Jan;25(1):21-39.
77. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel LA, Nien JK. Inflammation in preterm and term labour and delivery. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006 Oct;11(5).
78. Romero R, Gotsch F, Pineles B, Kusanovic JP. Inflammation in pregnancy: its roles in reproductive physiology, obstetrical complications, and fetal injury. *Nutr Rev*. 2007 Dec;65(12 Pt 2):S194-202.
79. Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK, Sabo V, Mazor M, Hobbins JC. Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 1988 Sep;159(3):661-6.
80. Sackett, DL; Richardson, WS ; Rosenberg, W ; Haynes, RB. Evidence-based Medicine: How to Practice and Teach EBM, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone, 2000. 261p.
81. Sarrut, S. (1974) Intérêt du frottis amniotique dans le dépistage des infections néonatales. *Med. Infect*. 5, 525-534.
82. Seong HS, Lee SE, Kang JH, Romero R, Yoon BH. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Oct;199(4).
83. Silveira MF, Santos IS, Barros AJ, Matijasevich A, Barros FC, Victora CG. Increase in preterm births in Brazil: review of population-based studies. *Rev Saude Publica*. 2008 Oct;42(5):957-64. Review. English, Portuguese.
84. Souza-Ribeiro FS. Epidemiologia, anatomia patológica e etiologia infecciosa em abortamentos ocorridos em duas maternidade de Vitória, ES (1999). Dissertação do Mestrado em Doenças Infecciosas. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006.

85. Spano LC. Citomegalovírus em abortamento humano: diagnóstico de processo infeccioso por sorologia e detecção direta de antígeno e de ácido nucleico virais. Tese de Doutorado em Biologia Celular e Molecular, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2002.
86. Sweet RL, Gibbs RS. Infection Diseases of the Female Genital tract. 4.ed. Philadelphia: Pippincot William & Willkins; 2002. 187p.
87. Takahashi M. Color Atlas of Cancer Cytology. Tokio: Igaku-Shoin, 1995.
88. Varli IH. Placental pathology regarding inflammation and a new classification of stillbirth. Thesis. Stockholm: Karolinska Institutet. 2013. 76p.
89. WHO (World Health Organization). Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO Expert Committee. Geneva: WHO; 1995. (Serie 854)
90. Williams MC, O'Brien WF, Nelson RN, Spellacy WN. Histologic chorioamnionitis is associated with fetal growth restriction in term and preterm infants. Am J Obstet Gynecol. 2000 Nov;183(5).
91. Wu YW, Escobar GJ, Grether JK, Croen LA, Greene JD, Newman TB. Chorioamnionitis and cerebral palsy in term and near-term infants. JAMA. 2003 Nov 26;290(20).
92. Yoon BH, Jun JK, Park KH, Syn HC, Gomez R, Romero R. Serum C-reactive protein, white blood cell count, and amniotic fluid white blood cell count in women with preterm premature rupture of membranes. Obstet Gynecol. 1996 Dec;88(6):1034-40.
93. Zanardo V, Vedovato S, Trevisanuto DD, Suppiej A, Cosmi E, Fais GF, Chiarelli S. Histological chorioamnionitis and neonatal leukemoid reaction in low-birth-weight infants. Hum Pathol. 2006 Jan;37(1).
94. Zlatnik FJ, Gellhaus TM, Benda JA, Koontz FP, Burmeister LF. Histologic chorioamnionitis, microbial infection, and prematurity. Obstet Gynecol. 1990 Sep;76(3 Pt 1):355-9.

ANEXOS

Anexo 1

Estudos do GEPR/DP/CCS/UFES, correlatos ao presente trabalho.

1. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa. **Estudo clínico, microbiológico molecular e anatomopatológico em parturientes com grande prevalência de doença periodontal e de desfecho reprodutivos ruim.** Doutorado em Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo. Orientador: Prof Dr. Mário Julio Ávila-Campos; co-orientador: Prof Dr Paulo Roberto Merçon de Vargas. Defesa em 2011.
2. Chiara Musso Ribeiro de Oliveira Souza. **Infecção vaginal: hábitos, microbiota, inflamação e sintomas. Estudo com autocoleta diária ao longo do ciclo menstrual.** Dissertação do Mestrado em Doenças Infecciosas, CCS, UFES. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas. Defesa em 2009.
3. Flavya da Silva Souza Ribeiro. **Epidemiologia, anatomia patológica e etiologia infecciosa em abortamentos ocorridos em duas maternidade de Vitória, ES (1999).** Dissertação do Mestrado em Doenças Infecciosas, CCS, UFES. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas. Defesa em 2006.
4. Helena Lucia Barroso dos Reis, **Contribuição ao estudo do crescimento fetal em gestantes HIV (+).** Dissertação do Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal Fluminense. Orientador: Professor Mauro Romero; co-orientador: Prof Dr Paulo Roberto Merçon de Vargas. Defesa em 2012.
5. Larissa Kerr de Araujo. **Área da placenta em casos de morte perinatal.** Dissertação do Mestrado Profissional de Medicina, CCS/UFES. Orientador: Prof Dr Paulo Roberto Merçon de Vargas. Projeto apresentado em outubro de 2010.
6. Laura Fregonassi Ribeiro, **Exame extemporâneo da placenta como método diagnóstico de infecção amniótica – estudo preliminar de 362 casos.** Monografia de Conclusão do Programa de Residência Médica em Patologia, HUCAM/UFES. Apresentado em 2010.

7. Liliana Cruz Spano. **Citomegalovírus em abortamento humano: diagnóstico de processo infeccioso por sorologia e detecção direta de antígeno e de ácido nucleico virais.** Tese de Doutorado em Biologia Celular e Molecular, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ, Brasil. Orientador: Jussara Pereira do Nascimento e José Paulo Gagliardi Leite. Defesa em 2002.
8. Paulo Batistuta Novaes. **Infecção amniótica em gestantes atendidas em hospitais públicos de Vitória, ES. Estudo da prevalência, fatores de risco, diagnóstico, anatomia patológica e desfecho reprodutivo.** Dissertação de Mestrado, NDI, CCS, UFES. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas. Defesa em 2003.
9. Paulo Roberto Merçon de Vargas. **Contribuição do estudo morfológico dos anexos fetais para o entendimento dos problemas reprodutivos, sobretudo os do III trimestre da gestação humana, em especial quanto ao valor diagnóstico dos achados morfológicos: estudo anátomo-clínico de 962 casos.** 1992. Tese (Doutorado em Anatomia Patológica Médica), Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. Orientador: Prof Dr Eduardo Alves Bambirra. Defesa em 1992.
10. Robson Dettmann Jarske. **Área da placenta em casos de óbito perinatal. Estudo preliminar em 79 casos.** Monografia do Programa de Residência Médica em Patologia, CCS, UFES. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas. Apresentado em 2010.

Anexo 2

2.1 - Aprovação do CEP/CCS/UFES



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 01 de novembro de 2007

Do: Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa
Pesquisador Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **"Avaliação microbiológica da doença periodontal e da placenta de parturientes atendidas em hospitais públicos de Vitória-ES"**

Senhor Pesquisador,

Informamos à V.Sa., que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Protocolo de Pesquisa, No. de Registro no CEP-091/07, intitulado: **"Avaliação microbiológica da doença periodontal e da placenta de parturientes atendidas em hospitais públicos de Vitória-ES"** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 31 de outubro de 2007.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra "c".

Atenciosamente,

Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro Biomédico / UFES

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde
Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe – Vitória – ES – CEP 29.040-091.
Telefax: (27) 3335 7504

2.2 - Aprovação do CEP/USP



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cx. de Correspondência "Área de Saúde" - USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 339 - org. 05508-900 São Paulo, SP - Brasil
Tel: (55) (11) 5081-7733 Fax: (55) (11) 5081-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 04 de outubro de 2007.

PARECER 807/CEP

Prezado Senhor,

Atendendo sua solicitação, a Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB, em sua 79ª reunião realizada em 03.10.07, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulada: "Avaliação Microbiológica da doença periodontal e do fôlego de parturientes atendidas em Hospitais Públicos de Vitória-ES".

Informo a V.Sa. que, após análise e discussão o referido projeto foi **aprovado** por esta Comissão.

Recomendamos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios a seus (parciais ou final), de acordo com a resolução 196/06 do Conselho Nacional de Saúde, item 33.2 letra c.

O primeiro relatório deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP em **03 de outubro de 2008**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luiz Victor Rizzo
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB / USP

Imo, Sr.
ALFREDO CARLOS DE MOURA FERREIRA
Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biomédicas - USP

2.3 - Autorização para acesso e uso de espécimes e documentos.

Vitória, 05 de março de 2013.

Ilma Sra.
Dra. Flávyda da Silva Souza Ribeiro
Sócia-gerente do Laboratório PAT Anatomia Patológica

Sra Gerente,

Solicitamos autorização para acesso aos documentos e espécimes do arquivo deste laboratório para coleta retrospectiva dos dados necessários para o projeto "Exame extemporâneo do cório placentário como método diagnóstico de infecção amniótica" a ser desenvolvido no Serviço de Patologia do HUCAM, como monografia do Mestrado em Doenças Infecciosas da UFES, sob orientação do Prof Dr Fausto Edmundo Lima Pereira e co-orientação do Prof. Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas, de acordo como projeto anexo.

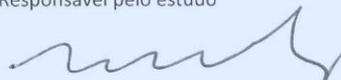
Para o desenvolvimento deste estudo necessitamos ampliar a casuística agregando casos de gestantes de médio e alto nível sócio-econômico em que, presumivelmente, a ocorrência de corioamnionite seria menor.

Esclarecemos que esta autorização também é necessária para encaminhamento do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFES.

Atenciosamente,



Dra Laura Fregonassi Ribeiro
Responsável pelo estudo



Prof Dr Paulo Roberto Merçon de Vargas
Chefe do Serviço de Anatomia Patológica do HUCAM
Co-orientador do estudo

Autorizo nos termos
do projeto
Flávyda da S.S. Ribeiro

Anexo 3

3.1 - Requisição Obstétrica de Exame dos Anexos Fetais

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTÔNIO MORAES SERVIÇO DE PATOLOGIA		Nome: _____	
REQUISIÇÃO DE EXAME DE PLACENTA E ABORTO		Nº Reg: _____	
		Clínica: _____ Enf: _____ Leito: _____	
Recebimento: ___/___/___ às ___:___ hs.			
Idade	Cor	Pré -Natal	
___ anos	Br <input type="checkbox"/>	Pt <input type="checkbox"/>	Pd <input type="checkbox"/>
		Não <input type="checkbox"/>	Sim <input type="checkbox"/>
Sim, no HUCAM <input type="checkbox"/>			
HISTÓRIA PATLÓGICA PREGRESSA/GESTAÇÕES ANTERIORES			
Diabetes <input type="checkbox"/>	D. cardíaco <input type="checkbox"/>	DHEG <input type="checkbox"/>	Hipertensão <input type="checkbox"/>
			Hepatite <input type="checkbox"/>
			Imcop Sang <input type="checkbox"/>
P <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/>	Nativ <input type="checkbox"/>	Premat <input type="checkbox"/>
			PIG <input type="checkbox"/>
			Ces <input type="checkbox"/>
(Anotar as causas das perdas fetais e as intercorrências importantes)			

GESTAÇÃO ATUAL			
DUM	IG pela DUM	Sem e	Dias VDRL
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> GESTAÇÃO SEM INTERCORRÊNCIA (exclui os problemas abaixo)			
USO NA GESTAÇÃO	Alcool <input type="checkbox"/>	Fumo 10 <input type="checkbox"/>	10 a 20 <input type="checkbox"/>
			20 cigs /dia <input type="checkbox"/>
			Drogas <input type="checkbox"/>
HERMOR, VAGINAL	Grau <input type="checkbox"/>	no <input type="checkbox"/>	° mes Causa _____
HIPERTENSÃO	Pre -eclâmpsia <input type="checkbox"/>	Superposta <input type="checkbox"/>	Início no° mesmmHg _____
ARTERIAL	eclâmpsia <input type="checkbox"/>	Transitoria <input type="checkbox"/>	PA maxima _____
INFECÇÕES	GÊNITO-URINÁRIA	Cistite <input type="checkbox"/>	Netrite <input type="checkbox"/>
			Herpes <input type="checkbox"/>
			Leucorreia <input type="checkbox"/>
			___mês
MATERNAS	SÍFILIS <input type="checkbox"/>	Gripes Repetidas <input type="checkbox"/>	
OUTROS	Sof fetal crônico <input type="checkbox"/>	Anemia mat <input type="checkbox"/>	Desnutrição mat grave <input type="checkbox"/>
PARTO E SECUNDAMENTO	Tempo de duração de bolsa rota	___ hs	
<input type="checkbox"/>	PARTO SEM INTECORRÊNCIAS (P vaginal, eutócico, c/feto vivo, sem distúrbios ou uso de drogas)		
LÍQUIDO AMNIÓTICO	Oligoânimo <input type="checkbox"/>	Polidrâmio <input type="checkbox"/>	Mecânio antigo <input type="checkbox"/>
			Odor fétido <input type="checkbox"/>
INFECÇÃO PERIPARTO	Febre <input type="checkbox"/>		
T. DE PARTO NORMAL			
PLACENTA ANORMAL	Prévia <input type="checkbox"/>	DPP <input type="checkbox"/>	Acretismo <input type="checkbox"/>
CORDÃO ANORMAL	circular <input type="checkbox"/>	Prolapso <input type="checkbox"/>	
OUTROS PROBLEMAS	Sof fetal crônico <input type="checkbox"/>	Anemia mat <input type="checkbox"/>	Desnutrição mat. grave <input type="checkbox"/>
FETO			
Vivo <input type="checkbox"/>	Néomorto <input type="checkbox"/>	Nat. não macerado <input type="checkbox"/>	Nat macerado <input type="checkbox"/>
			Masc. <input type="checkbox"/>
			Fem. <input type="checkbox"/>
Peso	Comprimento	Índice de apgar	
___ g	___ mm	1° min <input type="checkbox"/>	5° min <input type="checkbox"/>
PROBLEMAS			
<input type="checkbox"/> Ausentes (Feto vivo, sem sof. interparto, anomalias ou evidências de infecção).			
Data e Hora do Parto			
_____	_____	Hs _____	
Assinatura/nome legível ou CRM _____			
Este pedido deve acompanhar toda placenta e/ou abortos			
HUCAM - Mod. 21.1 PAT.			

3.2 - Requisição de Necropsia Perinatal (frente)

 UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO MORAES SERVIÇO DE PATOLOGIA		Nome: _____ N° Reg. _____ Clínica _____ Enf. _____ Leito _____	
PEDIDO DE NECRÓPSIA			
3 ÓBITO FETAL SIM <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/>		4 NOME _____	
		5 DATA DO ÓBITO HORA _____ DIA _____ MÊS _____ ANO _____	
6 ESTADO CIVIL SOLTEIRO <input type="checkbox"/> CASADO <input type="checkbox"/> VIÚVO <input type="checkbox"/> DESQUITADO <input type="checkbox"/> OUTRO <input type="checkbox"/> IGNORADO <input type="checkbox"/>		7 SEXO MASC. <input type="checkbox"/> FEMIN. <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
		8 DATA NASCIMENTO DIA _____ MES _____ ANO _____	
		9 IDADE ANOS COMPLETOS _____ ATE 1 ANO (MESES) _____ ATE 1 MÊS (DIAS) _____ ATE 1 DIA (HORAS) _____ IGN. <input type="checkbox"/>	
10 LOCAL DE OCORRÊNCIA HOSPITAL <input type="checkbox"/> VIA PÚBLICA <input type="checkbox"/> DOMICÍLIO <input type="checkbox"/> OUTRO <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>		11 ENDEREÇO _____	
		12 MUNICÍPIO _____	
13 RESIDÊNCIA HABITUAL (RUA, NÚMERO, BAIRRO, ETC.) _____		14 MUNICÍPIO _____	
		15 UF _____	
16 OCUPAÇÃO HABITUAL DO FALECIDO _____		17 NATURALIDADE _____	
		18 GRAU DE INSTRUÇÃO NENHUMA <input type="checkbox"/> FUNDAMENTAL <input type="checkbox"/> 2º GRAU <input type="checkbox"/> SUPERIOR <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
19 NOME DO PAI _____		20 NOME DA MÃE _____	
21 OCUPAÇÃO HABITUAL PAI _____		22 GRAU DE INSTRUÇÃO NENHUMA <input type="checkbox"/> FUNDAMENTAL <input type="checkbox"/> 2º GRAU <input type="checkbox"/> SUPERIOR <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
23 OCUPAÇÃO HABITUAL MÃE _____		24 IDADE _____	
		25 GRAU DE INSTRUÇÃO NENHUMA <input type="checkbox"/> FUNDAMENTAL <input type="checkbox"/> 2º GRAU <input type="checkbox"/> SUPERIOR <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
26 Nº DE FILHOS TIDOS NASC. VIVOS _____ NASC. MORTOS _____ TOTAL _____		27 DURAÇÃO DA GESTAÇÃO (EM SEMANAS) MENOS DE 20 <input type="checkbox"/> DE 20 À 27 <input type="checkbox"/> 28 OU MAIS <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
		28 GRAVIDEZ ÚNICA <input type="checkbox"/> DUPLA <input type="checkbox"/> TRÍPLICE <input type="checkbox"/> MAIS DE 3 <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
29 PARTO ESPONTÂNEO <input type="checkbox"/> OPERATÓRIO <input type="checkbox"/> FÓRCEPS <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>		30 MORTE (EM RELAÇÃO AO PARTO) ANTES <input type="checkbox"/> DURANTE <input type="checkbox"/> DEPOIS <input type="checkbox"/> IGN. <input type="checkbox"/>	
		31 PARA MENORES DE 28 DIAS OU ÓBITO FETAL. PESO AO NASCER _____ g IGN. <input type="checkbox"/>	
DATA ADMISSÃO _____		CLÍNICA DE INTERNAÇÃO _____	
		MÉDICO RESPONSÁVEL PELO PACIENTE _____	

RESUMO DA HISTÓRIA CLÍNICA

EXAMES COMPLEMENTARES RELEVANTES

Requisição de Necropsia Perinatal (verso)

OUTRAS INFORMAÇÕES RELEVANTES

DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS FINAIS

32 CAUSA DA MORTE: (ANOTE SÓ UM DIAGNÓSTICO POR LINHA) PARTE - I DOENÇA OU ESTADO MÓRBIDO QUE CAUSOU DIRETAMENTE A MORTE a) _____ DEVIDO A OU COMO CONSEQÜÊNCIA DE _____ CAUSAS ANTECEDENTES ESTADOS MÓRBIDOS, SE EXISTIREM, QUE PRODUZIRAM A CAUSA ACIMA REGISTRADA MENCIONANDO-SE EM ÚLTIMO LUGAR A CAUSA BÁSICA. b) _____ DEVIDO A OU COMO CONSEQÜÊNCIA DE _____ c) _____	INTERVALO ENTRE O LARTE DA SUCCEÇÃO E A MORTE
33 PARTE - II OUTROS ESTADOS PATOLÓGICOS SIGNIFICATIVOS QUE CONTRIBUÍRAM PARA A MORTE, PORÉM NÃO RELACIONADOS COM A DOENÇA, OU ESTADO PATOLÓGICO QUE A PRODUZIU. _____ _____	

RECOMENDAÇÕES ESPECIAIS PARA A NECRÓPSIA

Vitória, ____/____/____ Médico Requisitante _____ Assinatura e carimbo ou CRM

NOTAS

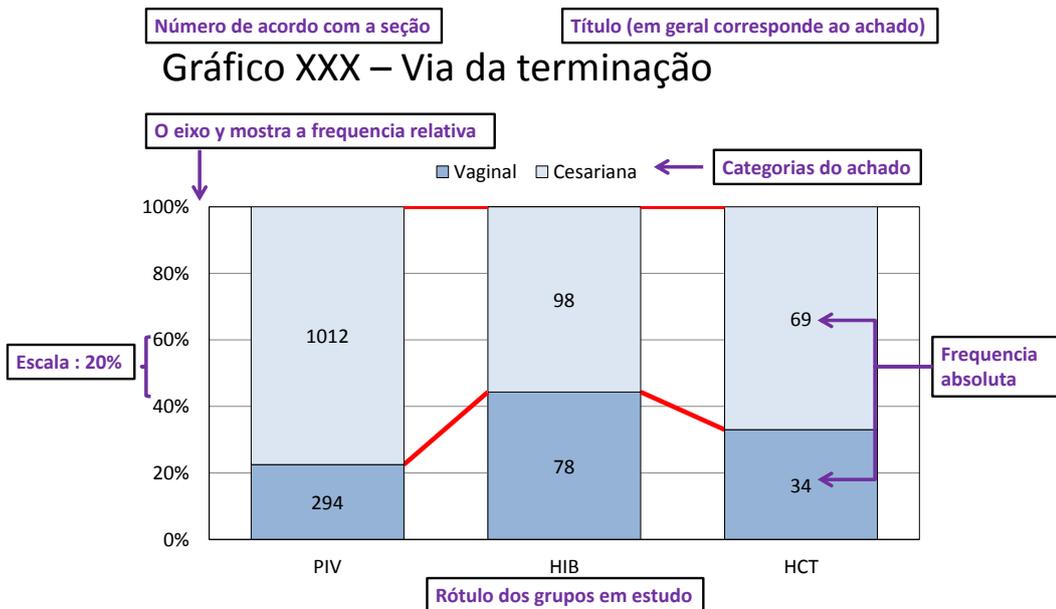
- 1 - Este pedido, juntamente com o prontuário, deverá ser encaminhado ao Laboratório de Anatomia Patológica, logo após o óbito.
- 2 - Para fornecer o atestado de óbito é imprescindível o preenchimento de todos os itens acima.
- 3 - **ÓBITO PERINATAL:** Este pedido deverá ser preenchido para óbitos de nativos de qualquer idade gestacional ou natimortos de mais de 28 semanas de gestação, para os quais são exigidos atestados de óbitos. Os demais óbitos perinatais são examinados como peças e devem ser encaminhados com a placenta e a requisição própria.
- 4 - **AUTORIZAÇÃO PARA A NECRÓPSIA:** O responsável pelo paciente assina a autorização no momento da internação. Entretanto, ocorrido o óbito, o médico atendente deverá explicar, à família, a necessidade do exame.

Atestado fornecido a _____ Data: ____/____/____

Hora: _____

Anexo 5

Guias para análise dos gráficos



Número de acordo com a seção Título (em geral corresponde ao achado)

Gráfico XXX – Índices de contraste do diagnóstico de CAM pelo CP e pela HP nos grupos HCT e PIV.

