

ESTUDO DA MATURIDADE FETAL CANINA EM FASE FINAL DE GESTAÇÃO: APLICABILIDADE DIAGNÓSTICA

Fernanda Gonçalves Canello¹
Vívian Tavares Almeida¹
Aline Eyko Kawanami¹
Guadalupe Sampaio Ferreira¹
Mariana Dulce Delle Vedove Ortolan¹
Maria Emília Franco Oliveira¹
Marcus Antonio Rossi Feliciano²
Wilter Ricardo Russiano Vicente³

RESUMO

Em medicina, técnicas para avaliar maturidade óssea, pulmonar, renal e cardíaca são rotineiramente utilizadas em obstetrícia, diferentemente da veterinária em que essas avaliações estão sendo recentemente estudadas. A avaliação dos fluidos fetais torna-se para a obstetrícia humana um parâmetro de determinação da maturidade fetal, gestação de alto risco, morte fetal, infecção e sexo fetais. Considerando que para pequenos animais faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas para determinação da maturação fetal dos conceptos, a presente revisão tem como objetivo descrever a aplicação de métodos diagnósticos para avaliação da maturidade fetal em pequenos animais.

Palavras-chave: caninos, maturidade fetal.

STUDY OF CANINE FETAL MATURITY, EMPHASIZING FINAL STAGE OF GESTATION, AND DIAGNOSTIC APPLICABILITY

ABSTRACT

In medicine, techniques for assessing skeletal maturity, lung, kidney and heart are already routinely used in obstetrics, unlike veterinary that these assessments are being studied recently. The assessment of fetal fluids becomes for obstetrics human a parameter for determining fetal maturity, high-risk pregnancy, fetal death, fetal infection and sex. Whereas for small animals it is necessary to develop techniques applicable to determine the fetal maturation of fetuses, this paper aims to review or describe the application of these methods and assessment of fetal maturity in small animals.

Keywords: canines, fetal maturity.

ESTUDIO DE LA MADUREZ FETAL CANINA AL FINAL DEL EMBARAZO: APLICABILIDAD DE DIAGNÓSTICO

RESUMEN

En la medicina, las técnicas para la evaluación de la madurez esquelética, pulmón, riñón y corazón ya se usan de forma rutinaria en obstetricia, a diferencia de veterinaria que estas

¹ Pós-Graduanda UNESP/Jaboticabal

² Pós-Doutorando do Departamento de Reprodução Animal. Contato principal para correspondência.

³ Prof. Titular do Departamento de Reprodução Animal, UNESP/Jaboticabal

avaliações estão sendo estudados recentemente. La evaluación de los fluidos fetales se convierte en obstetricia humana para un parámetro para la determinación de la madurez fetal, embarazo de alto riesgo, muerte fetal, infección fetal y el sexo. Mientras que para los pequeños animales es necesario desarrollar técnicas aplicables para determinar la maduración fetal, el presente trabajo tiene como objetivo revisar o describir la aplicación de estos métodos y la evaluación de la madurez fetal en animales pequeños.

Palabras clave: caninos, la madurez fetal.

INTRODUÇÃO

O termo maturidade fetal (*lat maturitate*) é definido como um estado de completo desenvolvimento, perfeição e excelência (1), ou seja, um feto maduro é aquele que passou por um desenvolvimento tal que já se encontra apto a sobreviver fora do ambiente materno.

Em veterinária, os principais sinais de maturidade observados nos carnívoros domésticos são extrauterinos, como por exemplo, a presença de pelos curtos e densos por todo o corpo do neonato, peso ao redor de 80 a 300 gramas e pálpebras ainda cerradas (2). Contudo, o diagnóstico intrauterino da maturação fetal é essencial na tentativa de instituir meios para detecção de intercorrências durante a gestação em pequenos animais, estabelecendo terapias pré-natais que aumentem as chances de sobrevivência materno-fetal (3). Em cadelas e gatas há ainda um agravante: o período de gestação, ou seja, intervalo desde o acasalamento fértil até o parto (4) de aproximadamente 60 dias (5), torna curto o tempo disponível para a maturação dos órgãos fetais, quanto mais para avaliação da mesma.

Técnicas para avaliação da maturidade óssea, pulmonar, renal e cardíaca estão sendo desenvolvidas em obstetrícia veterinária (6, 7, 8), mesmo que restritas à aplicação acadêmica. Considerando a importância do tema em questão, essa revisão tem como objetivo descrever a aplicação de métodos diagnósticos para avaliação da maturidade fetal em pequenos animais.

TÉCNICAS DE IMAGEM

O diagnóstico gestacional em cadelas contribui para aumentar a eficiência reprodutiva dos animais, de modo a adequar precocemente o manejo às novas necessidades da fêmea gestante (9). Ademais, o acompanhamento desta gestação permite avaliar a viabilidade dos fetos, seja por meio da avaliação do bem-estar fetal (exemplo: averiguar a normalidade do número batimentos cardíacos dos conceptos em relação à mães/frequência cardíaca fetal cerca de duas a três vezes maior que a materna), estimar o número de filhotes, bem como a idade gestacional, e acompanhar a maturação e desenvolvimento fetais (10).

Neste contexto, o exame ultrassonográfico, além de seguro à fêmea e aos fetos, mostra-se eficaz e preciso na avaliação da gestação em cadelas. Além de confirmar a prenhez, estimar a idade gestacional, avaliar as condições do útero e fetos, também é possível diagnosticar anormalidades gestacionais, como mau desenvolvimento do concepto, reabsorção e abortamento (11). Ato contínuo, ao considerar a evolução e desenvolvimento da gestação, por meio da visibilização das estruturas fetais em diferentes períodos (5), é possível estimar se o feto apresenta-se maduro ou não.

É possível estimar a maturação fetal por meio da organogênese durante toda a gestação, através do aparecimento dos membros, encéfalo, calcificação e vísceras como o fígado, coração rins, intestinos, estomago, vesícula urinaria (12, 13).

Os transdutores de alta frequência são úteis e precisos quando o assunto é precocidade de avaliação, pois permitem a obtenção de parâmetros métricos mais precisos, para serem utilizados em equações para a predição da idade fetal (11).

A partir dos 16 dias da gestação em cadelas (14) pode-se observar movimento das fibras cardíacas e a presença do embrião como uma estrutura hiperecótica presente dentro da vesícula gestacional utilizando transdutor de alta frequência de 12 MHz. Com aproximadamente 30 dias (15), utilizando transdutores de 7,5 MHz, identificou-se movimento fetal e presença de conteúdo anaecótico no estômago do feto aos 33 dias. A partir dos 34 e 36 dias observou-se o pulmão mais ecogênico, contrastando com o fígado hipocótico. Em estudo (16), foi possível visibilizar os rins em fetos de cadelas schnauzer miniatura aos 42 dias utilizando também, transdutores de 7,5 MHz.

A utilização de frequências superiores a 10 Mhz, demonstram que o aumento da frequência imprime precocidade na visibilização das vesículas gestacionais, entretanto, a partir do 35º dia de gestação não há maior sensibilidade na visibilização das estruturas fetais e extra-fetais (17).

O exame radiográfico é comumente utilizado no período final da gestação de cadelas, quando já houve mineralização óssea fetal, sendo obtidas imagens por volta de 42 dias de gestação. Em seguida, tornam-se visíveis os ossos dos membros dianteiros, traseiros, pelve, costelas e finalmente os dentes (18).

ESTUDO DOS FLUIDOS FETAIS

Os termos “alantóide” e “âmnion”, ambos de origem grega, designam a membrana que reveste o embrião (2). O líquido amniótico, por envolver completamente o embrião, protege-o contra choques externos, evita aderências da membrana amniótica ao concepto e desidratação do mesmo, permite o crescimento e a movimentação fetal, além de lubrificar o canal do parto, facilitando a passagem do feto. Em contrapartida, o líquido alantoidiano colabora na manutenção da pressão osmótica do plasma fetal, armazena os produtos da excreção do feto e auxilia a adoção da posição eutócica próximo ao parto (4, 5, 2).

Em carnívoros, o líquido amniótico assume coloração esbranquiçada, aspecto translúcido e consistência viscosa, variando de 8 a 30 ml. O líquido alantoidiano, com 10 a 50 ml, possui cor amarelo-escuro a esverdeado, sendo transparente e aquoso (2).

Os líquidos fetais exercem papel fundamental no desenvolvimento dos sistemas musculoesquelético, gastrointestinal e respiratório fetal (4). Por conseguinte, a análise destes fluidos (composição e volume) permite não apenas o acompanhamento da gestação, mas também a avaliação do estado de maturação fetal.

Em Medicina, a avaliação dos fluidos fetais é utilizada como parâmetro para determinação da maturidade fetal, gestação de alto risco, morte fetal, infecção e sexagem fetais (19), com real e rotineira aplicação clínica. Já o desenvolvimento de técnicas com tal objetivo encontra certas limitações em veterinária, como a inviabilidade e/ou dificuldade de realização em determinadas espécies múltiparas.

Até o final da década de 60, o acompanhamento da gestação em humanos era baseado quase que exclusivamente em técnicas de controle, tanto da viabilidade quanto da maturação fetal (última menstruação, movimentos fetais, escuta fetal e altura uterina eram os parâmetros de análise). Com o desenvolvimento de uma tecnologia precisa e específica, inúmeras técnicas surgiram permitindo hoje a avaliação minuciosa do desenvolvimento do feto, passo a passo, como, por exemplo, a ultrassonografia, dopplervelocimetria, cardiotocografia, cardiocentese, ecocardiografia, ressonância magnética, amniocentese e amnioscopia (20), sendo as duas últimas o estudo dos fluidos fetais (Tabela 1).

Tabela 1. Técnicas de diagnóstico e condições clínicas associadas para estudo da maturidade fetal em medicina (20).

Técnicas de Diagnóstico	Condição Clínica
Ultrassonografia	Desenvolvimento Somático
Ultrassonografia/Ressonância Magnética	Malformações fetais
Amniocentese/Ultrassonografia/Sangue Materno	Sexo fetal
Amniocentese/Biópsia de Vilo Corial	Alterações genéticas e metabólicas
Amniocentese/Ultrassonografia	Maturação Pulmonar
Amniocentese (concentração de surfactantes)	Maturação Renal
Amniocentese (volume e concentração de eletrólitos)	Maturação Placentária
Amniocentese (presença de células e secreções)	Maturação da Pele

É notório que diversas e importantes informações provem da investigação dos fluidos fetais em humanos, como por exemplo, o aspecto do líquido amniótico, sua coloração, presença de partículas em suspensão (grumos), transparência e volume, favorecendo a avaliação da maturação fetal e condição clínica do concepto (19).

Exemplificando a importância dessas avaliações, alterações na coloração do líquido amniótico humano podem evidenciar: líquido amarelado presume enfermidade hemolítica, com acúmulo de bilirrubina (isoimunização pelo fator Rh); se amarelo esverdeado, denuncia a presença de mecônio e risco de infecção fetal; cor verde, clara ou escura, relaciona-se à presença progressiva de mecônio e está ligada a sofrimento fetal; coloração vermelha sugere morte do feto, evoluindo para marrom achocolatado em caso de maceração (21).

Da mesma forma que a coloração, os volumes anormais de líquido amniótico evidenciam problemas gestacionais. Em mulheres, o volume máximo deste líquido é alcançado na 34ª semana de gestação, decaindo até o momento do parto devido à maturação do sistema tubular fetal (22). O oligodrâmnio, diminuição do volume para valores inferiores a 400 ml entre 21 e 42 semanas de gestação em mulheres, associa-se à má formação do sistema urinário fetal. Em contrapartida, distúrbios genéticos, infecções, má formação fetal e obstrução digestiva cursam com o polidrâmnio, ou seja, aumento do volume para valor superior a 2000 ml (23; 24).

Em estudo dos líquidos fetais em cadelas gestantes aos 30 e 40 dias de gestação e no momento da cesariana, verificou-se a presença de células imaturas, medianamente maduras, maduras e hiper maduras anucleadas (escamas), sendo que a concentração de escamas superior a 90% foi relacionada a fetos em estágio de pós-maturidade (3).

Cabe salientar que são poucos os estudos sobre os fluidos fetais em cães durante o processo gestacional, principalmente devido à disposição anatômica das membranas fetais e sua fragilidade (25). Faz-se então necessário o aprimoramento de técnicas que viabilizem uma investigação precisa destes líquidos, uma vez que refletem a viabilidade e a maturidade do feto.

MATURIDADE CARDIOVASCULAR FETAL

O estudo do sistema cardiovascular dos fetos caninos inicia-se a partir do 32º dia gestacional com a visualização dos batimentos cardíacos fetais, por meio da ultrassonografia. Em seguida, no 46º dia de gestação, é possível detectar as câmaras e valvas cardíacas (26,27). Porém, somente a ultrassonografia bidimensional não permite avaliar as características hemodinâmicas vasculares, sendo necessário o emprego do Doppler o que permite uma avaliação em tempo real das hemodinâmicas materna e fetal de vasos, tais como artéria uteroplacentária, cordão umbilical, aorta e veia cava caudal do feto. O crescimento fetal

adequado exige uma perfusão sanguínea normal garantindo o aporte de nutrientes para o feto (28,29).

De modo geral, no início da gestação há simultaneamente altos valores de índice de resistência (RI) e índice de pulsatividade (PI) e ausência de fluxo diastólico nas artérias aorta e umbilical, índices vasculares importantes avaliados por meio do Doppler gestacional em cadelas. De acordo com o desenvolvimento da circulação fetal, aliado ao aparecimento de um pico diastólico nessas artérias, os valores de RI e PI da artéria umbilical e RI da artéria aorta diminuem progressivamente até o final da gestação (8).

MATURIDADE RENAL FETAL

A função renal fetal durante o período de gestação ocorre por meio de mudanças sucessivas, tanto fisiológicas como morfológicas. O conhecimento deste processo é importante uma vez que a urina, durante a última metade da gestação, é a principal fonte de líquido amniótico (30).

A composição do líquido amniótico (eletrólitos, proteínas e equilíbrio ácido-base) muda rapidamente, o que leva a hipótese que estas alterações reflitam no desenvolvimento e maturação dos órgãos fetais, em particular, nas atividades metabólicas do rim, pulmões e trato digestivo (31).

O desenvolvimento dos néfrons em rins fetais inicia-se com as mudanças que ocorrem no metanéfron e progride até a formação do rim definitivo, o qual começa a produzir urina. Estas mudanças refletem em aumento da diferenciação fetal e na composição do fluido amniótico (31). A mudança secundária da maturação renal é justamente o aparecimento da filtração glomerular fetal, mesmo quando a função tubular ainda se encontra imatura (32).

Alfafetoproteína (AFP) é uma glicoproteína sintetizada pelo saco gestacional, trato gastrointestinal e fígado fetal (33). Sua função ainda é desconhecida, no entanto, supõem-se ser importante na prevenção da rejeição do feto pela mãe (34). AFP passa para o líquido amniótico por meio da urina do feto e em níveis elevados pode ser indicativo de defeito no tubo neural, defeitos de pele, trato urinário, placenta e trato gastrointestinal (35).

Outro elemento bioquímico a ser considerado de grande importância é a creatinina, por ser utilizada também para determinar a maturidade fetal em diferentes espécies (36). Uma grande concentração de urina no líquido amniótico está associada diretamente ao aumento na taxa de filtração glomerular, maturação do rim fetal e da massa muscular do feto (30).

Embora imaturo, o rim fetal, durante seu período de formação contribui para a sobrevivência do conceito durante seu crescimento (3) e também pode ser avaliado funcionalmente pela determinação de microglobulinas vesicais, sendo confirmada pela presença de microglobulinas no fluido amniótico (37). No decorrer da gestação, as células do túbulo proximal elevam sua capacidade de absorção, favorecendo a transferência destas proteínas para o ambiente amniótico. Logo, o aumento da filtração glomerular pode ser entendido como um indicativo de maturidade renal definida pela avaliação da maturidade das células tubulares mediante o transporte de diversas moléculas (14).

MATURIDADE PULMONAR FETAL

O desenvolvimento do aparelho respiratório fetal é um fenômeno complexo e contínuo, que engloba o crescimento e maturação pulmonar. Inicia-se na fase precoce da gestação e estende-se até a vida adulta, podendo ser dividida em três períodos cronológicos: embrionário, fetal e pós-natal (38).

O sucesso no processo de adaptação imediata à vida extrauterina depende essencialmente da presença de uma função pulmonar adequada, incluindo a maturação

morfológica, fisiológica e bioquímica do parênquima pulmonar (39). Ao final da gestação é possível inflar os pulmões fetais com ar, porém ao cessar a pressão positiva administrada, os alvéolos colabam rapidamente (40). O surfactante (lipoproteína tensoativa secretada dentro dos alvéolos pela membrana alveolar) tem fundamental importância por se interdigitar entre as moléculas de água da fase aquosa do filme superficial alveolar e reduzir suas propriedades de coesão, diminuindo a tensão superficial, sendo que desta maneira, o surfactante estabiliza os alvéolos e garante que eles permaneçam de tamanho uniforme (38).

Para adaptação do neonato à vida extrauterina é essencial que haja uma quantidade adequada de surfactantes, para revestir os espaços aéreos dos pulmões (41). Essas substâncias são produzidas e estocadas nos pneumócitos tipo II (42).

Em medicina humana, a maturidade fetal pulmonar é avaliada pelo fluido amniótico utilizando amniocentese. Conforme o pulmão se desenvolve, quantidades significativas de surfactante são eliminadas para fora dos pulmões do feto e se acumulam no líquido amniótico (43). Os testes de maturidade pulmonar podem ser divididos didaticamente em dois grupos: os testes que dosam a presença do material surfactante no líquido amniótico e aqueles que testam a função surfactante presente nesse líquido (44).

Entre os testes incluem-se, entre outros, a relação lecitina/esfingomielina (L/E), teste de Clements, a dosagem da fosfatidilcolina saturada, do fosfatidilglicerol, perfil dos fosfolipídios, dosagem das proteínas específicas do surfactante e contagem dos corpos lamelares. Já os testes de função surfactante baseiam-se na capacidade dessa substância de diminuir a tensão superficial nos líquidos provenientes das vias aéreas (45).

A aplicabilidade de tais testes em veterinária ainda é recente, sendo na maioria das vezes utilizados em pesquisa. O teste de Clements “modificado” é utilizado para avaliação de amostras de líquidos fetais na espécie canina e obtiveram resultados confiáveis e indicativos de maturidade fetal pulmonar em cães (7).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O exame ultrassonográfico atualmente tem grande utilidade na rotina veterinária de pequenos animais no que diz respeito à gestação. A ultrassonografia permite um diagnóstico gestacional preciso, assim como realizar monitoração da cadela prenhe, avaliação da viabilidade fetal e detecção de possíveis anormalidades da gestação e dos fetos.

A determinação pré-natal da maturidade fetal é importante, principalmente, nos casos de gestação de alto risco, quando a idade gestacional não é conhecida, em casos de cesarianas. Quando existem riscos tanto à saúde do concepto quanto a saúde materna, a precocidade no reconhecimento da viabilidade ou inviabilidade do feto aumenta a probabilidade de uma intervenção rápida.

REFERÊNCIAS

1. Michaelis: moderno dicionário da língua portuguesa. São Paulo: Companhia Melhoramentos, 1998-(Dicionários Michaelis). 2259p.
2. Toniollo GH, Vicente WRR. Manual de Obstetrícia Veterinária. São Paulo: Varela, 2003.
3. Barreto CS. Avaliação bioquímica, citológica e do perfil eletroforético de proteínas no líquido amniótico e alantoideano de cadelas entre 30-40 dias da gestação e no momento do parto. [Dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2002.

4. Hafez ESSE, Hafez B. Reprodução Animal. Barueri: Manole; 2004.
5. Prestes NC, Landim-Alvarenga FC. Obstetrícia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koog; 2012.
6. Barreto CS, Prestes NC, Souza FF, Santos RV, Matayoshi PM, De Vita B, Leal LS. Concentração proteica nos fluidos fetais como método indicador da maturidade renal de fetos caninos. *Vet. e Zootec.* 2012;19(1): 337-345.
7. Barreto CS, Prestes NC, Souza FF, Santos RV, Matayoshi PM, De Vita B, Leal LS. Uso do teste de Clements modificado e densidade óptica do líquido amniótico e alantoidiano para avaliação da maturidade pulmonar em cães. *Vet. e Zootec.* 2011; 18(1):63-69.
8. Silva LDM, Barbosa CC, Pereira BS. O uso da ultrassonografia Doppler na reprodução de cadelas e gatas. *Rev Bras Reprod Anim.* 2011; 35(2):198-201.
9. Freitas JG, Silva AR. Diagnóstico de gestação em cadelas. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2008; 32(1):58-66.
10. Jackson PGG. Obstetrícia veterinária. São Paulo: Roca, 2006.
11. Feliciano MAR, Vicente WRR, Leite CAL, Muzzi LAL. Novas perspectivas no diagnóstico ultra-sonográfico gestacional em cadelas – revisão de literatura. *Clín. Veterin.* 2008; 73:56-60.
12. Aissi A, Alloui N, Slimani C, Touri S. Preliminary study of the early ultrasonic diagnosis of pregnancy and fetal development in the dog. *J Anim Vet Adv.* 2008; 7(5): 607-611.
13. Davidson AP, Baker TW. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. *Top Companion Anim M.* 2009; 4(2):55- 63.
14. Ferrari M. Ultrassonografia de alta frequência para avaliação do desenvolvimento gestacional e da fetometria em cadelas. [Dissertação]. Goiânia: Programa de Pós graduação em Ciência Animal- UFG, Medicina Veterinária; 2009.
15. Aissi A, Slimani S. Ultrasonographic appearance of gestational structures throughout pregnancy in bitches. *Am J Anim Vet Sci.* 2008; 3(1):32-35.
16. Kim B S, Son C H. Time of initial detection of fetal and extra fetal structures by ultrasonographic examination in miniature schnauzer bitches. *J Vet Sci.* 2007; 8(3):289-293.
17. Burk RL, Feeney DA. Small Animal Radiology and ultrasonography: A diagnostic Atlas and Text, St Louis: Elsevier Inc.; 2003.
18. Concannon PW, Yeager AE. Ultrasonographic, radiographic and clinical changes during pregnancy parturition and lactate on in dogs. In: Annual Meeting of Society for Theriogenology. San Diego; 1990. p. 197-223.
19. Rezende J. Obstetrícia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
20. Neme B. Obstetrícia Básica. São Paulo: Sarvier; 2006.

21. Benzecry RM. Amnioscopia. [Livre Docência]. Rio de Janeiro: Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, p. 1-30, 1970.
22. Costa MGF, Costa Filho CFF, Dias MC, Freitas ACS. Ferramenta de Auxílio ao Diagnóstico Médico Durante a Gravidez. In: Memórias II Congresso Latinoamericano de Ingeniería Biomédica; 2001, Havana, Cuba; 2004, p. 1-5.
23. Mauad Filho F. Manual e Coletânea de Tabelas em Ultra-Sonografia. Ribeirão Preto: Scala, 1997.
24. Reece A, Hobbins J, Mahoney M & Petrie R. Compêndio de Medicina Fetal e Materna. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996.
25. Christiansen J. Reprodução no cão e no gato. São Paulo: Manole, 1988.
26. Burk RL, Ackerman N. The abdmomen. In: Small animal radiology and ultrasonography: a diagnostic atlas and text. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. p.215-426,
27. Feliciano MAR, Muzzi LAL, Leite CAL, Junqueira MA. Ultrassonografia bidimensional convencional, de alta resolução e tridimensional no acompanhamento da gestação em cadela. Arq Bras Med Vet Zootec. 2007; 59:1333-1337.
28. Di Salvo P, Bocci F, Zelli R, Polisca A. Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch. Vet Sci. 2006; 81:382-388.
29. Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner LCP, Weiner P, Harman CR. Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction. Ultrasound Obst Gyn. 2000; 16:407-413.
30. Oliveira FR. Líquido amniótico: Perfil bioquímico do desenvolvimento renal e fetal. [Dissertação]. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica. 2001.
31. Gulbis B, Gervy C, Jauniaux E. Amniotic fluid biochemistry in second-trimester trisomic pregnancies: relationships to fetal organ maturation and dysfunction. Early Hum Dev. 1998; 52:211-219.
32. Muller F, Oury J, Boue J, Boue A. Microvillar enzyme assay in amniotic fluid and fetal tissues at different stages of development. Prenat Diagn. 1988; 8:19-198.
33. Daffos F, Forestier F. Les Malformations du Système Nerveux Central. In: Daffos F, Forestier F eds. Médecine et Biologie du Foetus Humain, Paris: Maloine, 1988. p. 260-291.
34. Milunsky A. Maternal Serum Screening for Neural Tube and Other Defects. In Milunsky A ed. Fetus: Diagnosis, prevention and treatment. 3rd ed. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, 1992. p. 507-63.
35. Maestri D, Sanseverino MTV, Cheinquer N, Correa MCM, Kessler RG, De Azevedo Magalhães JA. Alfafetoproteína: valores normais no líquido amniótico entre 14 e 21 semanas. Rev Ass Med Brasil. 1998; 44(4):273-276.

36. Zogno MA, Miglino MA, Oliveira MF. Análise bioquímica dos líquidos fetais e citologia do fluido amniótico da fêmea de Mocó (*Kerodon rupestris*). *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2004; 41:228-235.
37. Lumbers ER, Smith FG, Stevens AD. Measurement of net transplacental transfer of fluid to the fetal sheep. *J Physiol*. 1985; 364:289-99.
38. Kopelman, BI; Miyoshi, MH; Guinsburg, R. Distúrbios respiratórios no período neonatal. São Paulo: Atheneu, 1998.
39. Cuello, AF; Aquim, EE; Masciantonio, L. Terapêutica funcional respiratória del recién nacido. Buenos Aires: Intermédica, 1993.
40. Vestweber, JG. Respiratory problems of newborn calves. *V Vet Clin N Am-Food A*. 1997; 13(3):411-424.
41. Díaz, RAC; Millo, JAM; Domínguez, NC. Evaluación del surfacén em el síndrome de dificultad respiratoria del prematuro. *Rev Cubana Pediatr*. 2000; 72:287-294.
42. Rebello, CM; Proença, RSM; Troster, EJ; Jobe, AH. Terapia com surfactante pulmonar exógeno: o que é estabelecido e o que necessitamos determinar. *J Pediatr*. 2002; 78:215-226,
43. Field, NT; Gilbert, WM. Current status of amniotic fluid tests of fetal maturity. *Clin Obstet Gynecol*. 1997;40:366–386.
44. Luz, JH. Teste das microbolhas estáveis na avaliação da função surfatante in vitro [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2001.
45. Vieira, ACG. Contagem de corpos lamelares na secreção traqueal de recém-nascidos para avaliação da maturidade pulmonar [tese]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2010.

Recebido em: 08/10/2013

Aceito em: 29/06/2015