

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**DANIELA MARQUES DE LIMA MOTA FERREIRA**

**ADMINISTRAÇÃO OROFARÍNGEA DE COLOSTRO E PREVENÇÃO  
DE INFECÇÕES EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO  
BAIXO PESO AO NASCER: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

**Uberlândia**

**2016**

**DANIELA MARQUES DE LIMA MOTA FERREIRA**

**ADMINISTRAÇÃO OROFARÍNGEA DE COLOSTRO E PREVENÇÃO  
DE INFECÇÕES EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO  
BAIXO PESO AO NASCER: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

**Área de Concentração:** Ciências da Saúde

**Orientador:** Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Mônica Camargo Sopenete

Uberlândia

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

F383a  
2016      Ferreira, Daniela Marques de Lima Mota, 1974  
Administração orofaríngea de colostro e prevenção de infecções em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer: ensaio clínico randomizado / Daniela Marques de Lima Mota Ferreira. - 2016.  
81 f. : il.

Orientadora: Vânia Olivetti Steffen Abdallah.  
Coorientadora: Mônica Camargo Sopelete.  
Dissertação (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.  
Inclui bibliografia.

1. Ciências Médicas - Teses. 2. Colostro - Teses. 3. Recém-nascidos - Peso baixo - Teses. 4. Neonatologia - Teses. I. Abdallah, Vânia Olivetti Steffen. II. Sopelete, Mônica Camargo, 1966. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

**DANIELA MARQUES DE LIMA MOTA FERREIRA**

**ADMINISTRAÇÃO OROFARÍNGEA DE COLOSTRO E PREVENÇÃO DE  
INFECÇÕES EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO BAIXO PESO AO  
NASCER: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.  
Área de concentração: Ciências da Saúde.

**Uberlândia, 07 de Novembro de 2016.**

**Banca Examinadora:**

Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah  
Universidade Federal de Uberlândia / UFU

Profa. Dra. Maria Elisabeth Lopes Moreira  
Instituto Fernandes Figueira / Fiocruz

Prof. Dr. Sergio Tadeu Martins Marba  
Universidade de Campinas / UNICAMP

Profa. Dra. Ana Elisa Madalena Rinaldi  
Universidade Federal de Uberlândia / UFU

Profa. Dra. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo  
Universidade Federal de Uberlândia / UFU

## *Dedicatória*

*À minha amada filha Maria Clara, uma das grandes razões da minha existência,  
por me incentivar a ser melhor a cada dia e por compreender a minha ausência e  
as minhas limitações...*

*Ao meu esposo Paulo, companheiro de todas as horas, por apoiar as minhas  
escolhas e por me fazer sempre refletir que o bom pode ser bom e não precisa ser  
ótimo...*

*Amo vocês!*

*“O tempo é muito lento para os que esperam  
Muito rápido para os que têm medo  
Muito longo para os que lamentam  
Muito curto para os que festejam  
Mas, para os que amam, o tempo é eterno.*

*Henry Van Dyke*

## *Agradecimento Especial*

*À Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah,*

*Minha grande mestre por ter me ensinado coisas grandes na prática da Medicina, em especial, da Neonatologia;*

*Minha mãe do coração por ter me guiado e amparado ao longo de todos estes anos com seu exemplo, conselhos e afeto;*

*Minha grande amiga por ter me incentivado, apoiado e torcido sempre e incondicionalmente, por mim.*

*Agradeço também ao Dr. Georges Abdallah pelo carinho e por ter cuidado de mim em muitos momentos como se cuida de uma filha.*

*À vocês, meus queridos, minha eterna gratidão!*

*“Pessoas especiais aparecem na nossa vida quando menos esperamos, estão ao nosso lado quando mais precisamos e ficam para sempre por se tornarem parte de nós.”*

## *Agradecimentos*

*À Deus que através do Seu amor, plasmado na atuação das Leis Universais, fez-me sentir forte e capaz de vencer todos os obstáculos e chegar até aqui.*

*Às mães e seus bebês que contribuíram para a realização deste projeto e tanto têm me ensinado, à cada dia, com seus exemplos de resignação, resiliência e valentia.*

*À minha co-orientadora Profa. Dra. Monica Camargo Sopenete pela contribuição na realização deste trabalho.*

*À amiga Angela Maria Morais de Oliveira e toda a equipe do Banco de Leite Humano pela amizade e pelo compromisso na preparação das seringas para administração orofaríngea.*

*À equipe do Laboratório de Imunologia, em especial, aos professores José Roberto Mineo e Fernanda Santiago pelo apoio e colaboração na realização dos testes imunológicos.*

*Ao Prof. Dr. Morun Bernardino Neto pela generosidade e gentileza em nos socorrer com as análises estatísticas.*

*Ao Prof. Dr. Francisco Eulógio Martinez pela gentileza em nos auxiliar na elaboração do projeto e na revisão final do trabalho.*

*Às alunas de iniciação científica Nathalia Gimenez Afonso, Érica Bonganhi de Bem, Natássia Navarro, Débora Vieira de Leves e Giovana Fatureto pelo compromisso e colaboração nas diversas etapas da pesquisa e por me pouparem um tempo precioso.*

*Aos colegas médicos e à equipe multidisciplinar do Serviço de Neonatologia pelo incentivo e apoio. Agradeço, em especial, à equipe de enfermagem cuja colaboração na administração orofaríngea foi essencial à realização do trabalho.*

*À Profa. Cláudia Lúcia Carneiro pelo exemplo de competência, compromisso e compaixão no cuidado dos bebês.*

*Aos professores do Departamento de Pediatria pela amizade, pela confiança e pelo apoio.*

*Aos professores participantes do exame de qualificação, Prof. Dr. Carlos Henrique Martins e Profa. Dra. Ana Elisa Madalena Rinaldi pelas importantes sugestões e correções.*

*Aos professores participantes da comissão examinadora para defesa desta Tese, Profa. Dra. Maria Elisabeth Lopes Moreira, Prof. Dr. Sergio Tadeu Martins Marba, Profa. Dra. Ana Elisa Madalena Rinaldi, Profa. Dra. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo, Profa. Dra. Maria Bernadete Jeha Araújo e Profa. Dra. Magda Regina Silva Moura pela gentileza em aceitarem prontamente o convite e disponibilizarem parte do seu precioso tempo para colaborar conosco nesta avaliação.*

*À querida Lilian pela simpatia e gentileza e por ser tão cuidadosa e detalhista na revisão e correção deste trabalho.*

*À minha sogra Eunice e meu saudoso sogro Paulo pelo carinho e pelo apoio de sempre.*

*Aos meus pais Paulo Roberto e Vicentina que me ensinaram com seus exemplos e suas limitações grandes virtudes como o amor, a honestidade, a humildade, a perseverança, a ética e a busca pelo conhecimento.*

*Às minhas queridas irmãs Paula e Fernanda que sempre me incentivaram, apoiaram e torceram pelo meu sucesso. E também por me proporcionarem momentos inesquecíveis de bom humor e alegria.*

*Aos meus adorados sobrinhos e afilhados Isabella, Marianna, Gabriella e Noah que enchem minha vida de amor e alegria. Vocês fazem parte das melhores e mais gratas recordações que guardo com muito carinho em meu coração.*

*À todos os amigos que direta e indiretamente contribuíram com esta conquista!*

*Sem vocês não teria sido possível...*

*“Eu guardo, para todos aqueles que de uma ou outra forma  
contribuíram para fazer-me mais grata a vida, uma eterna gratidão, e  
estampo nessa gratidão a lealdade com que conservo essa recordação,  
a qual jamais pôde empalidecer ali onde se encerra tudo quanto  
constitui a história de minha vida.”*

*Raumsol*

## RESUMO

### **Administração orofaríngea de colostro e a prevenção de infecções em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer.**

**Objetivo:** Avaliar o efeito da administração orofaríngea de colostro na estimulação do sistema imune e na prevenção de infecções em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer do Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Uberlândia.

**Método:** Estudo clínico, randomizado, duplo-cego, placebo controlado com 145 RNPT MBP que foram randomizados para receber administração orofaríngea de 0,2 mL de colostro (Grupo Colostro) ou água destilada (Grupo Placebo) a cada 2 horas por 48 horas, com início nas primeiras 48-72 horas de vida. Quando o colostro não estava disponível para RN randomizado para o grupo experimental ele recebeu administração orofaríngea de leite humano de banco (Grupo LHB). Os níveis de IgA foram dosados no soro e urina antes e após o tratamento. Foram coletados os dados clínicos durante a internação do RN.

**Resultados:** Não foi observado diferença na incidência de sepse tardia nos 3 grupos analisados. Também não houve diferença no tempo de internação e mortalidade. Os níveis séricos e urinários de IgA foram semelhantes nos 3 grupos antes e após o tratamento. Nos 3 grupos a mediana de início de dieta enteral foi de 3 dias e todos os RNPT MBP foram alimentados exclusivamente com LH até o volume de pelo menos 100 mL/Kg/dia.

**Conclusão:** Não foi observado efeito da administração orofaríngea de colostro na incidência de sepse tardia e nas dosagens de IgA no soro e urina antes e após o tratamento. Estes achados podem ser justificados pelo uso exclusivo de LH nos primeiros dias de vida e reforçam a importância da dieta enteral precoce, especialmente, com LH.

**Palavras chave:** Administração orofaríngea. Colostro. Recém-nascido pré-termo. Sepse Neonatal. IgA.

## **ABSTRACT**

### **Oropharyngeal Colostrum Administration and Prevention of Late Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Preterm Infants**

**Objective:** The purpose of this study was to evaluate the effects of oropharyngeal colostrum administration in very low birth weight (VLBW) preterm infants in first days of life, specially in reduction of late onset sepsis.

**Study Design:** We conducted a double-blind, randomized, placebo-controlled trial and assigned 145 VLBW infants to receive 0.2 mL of colostrum (Colostrum Group) or sterile water (Placebo Group) via oropharyngeal route every 2 hours for 48 hours, beginning in the first 48-72 hours of life. If the infant was assigned to experimental group but, for any reason, colostrum was not available, this infant received oropharyngeal administration of donor human milk (DHM Group). Immunoglobulin A (IgA) was measured in serum and urine pre and pos treatment. Clinical data during hospitalization were collected.

**Results:** We found no statistically significant differences in the incidence of late onset sepsis comparing the 3 groups. There were either no differences considering length of hospital stay and mortality. The measurement of IgA in serum and urine were similar pre and pos treatment in the 3 groups. All groups of neonates initiated enteral nutrition with a median of 3 days and were exclusively fed breast milk until a volume of at least 100 mL/Kg/day.

**Conclusion:** We observed no effect of oropharyngeal administration of colostrum in the incidence of late onset sepsis and in levels of IgA in serum and urine before and after protocol treatment. This finding can be justified by the practice of feeding VLBW infants exclusively with breast milk in the first days of life and reinforces the prior knowledge of the importance of early nutrition, especially, with human milk.

**Key words:** Oropharyngeal administration. Colostrum. Preterm infants. Neonatal Sepsis. IgA.

## LISTA DE QUADROS, FIGURAS E TABELAS

<b>Quadro 1.</b>	Estudos sobre a administração orofaríngea de colostro em recém-nascidos pré-termo, de 2010 a 2011 .....	27
<b>Quadro 2.</b>	Estudos sobre a administração orofaríngea de colostro em recém-nascidos pré-termo, de 2013 a 2015 .....	28
<b>Figura 1.</b>	Interação do leite materno com o sistema imune e o desenvolvimento da função imune neonatal a curto e longo prazo .....	22
<b>Figura 2.</b>	Fluxograma de inclusão dos RNPT MBP no estudo .....	41
<b>Tabela 1.</b>	Características demográficas e clínicas dos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	42
<b>Tabela 2.</b>	Características nutricionais dos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	43
<b>Tabela 3.</b>	Evolução clínica dos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	44
<b>Tabela 4.</b>	Dosagem sérica e urinária de IgA nos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	45
<b>Tabela 5.</b>	Características nutricionais dos recém-nascidos de extremo baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	46
<b>Tabela 6.</b>	Evolução clínica dos recém-nascidos de extremo baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	47
<b>Tabela 7.</b>	Dosagem sérica e urinária de IgA nos recém-nascidos de extremo baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo .....	48

## LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

BLH -	Banco de Leite Humano
DBP -	Displasia Broncopulmonar
EBP -	Extremo Baixo Peso
ECN -	Enterocolite Necrosante
ELISA -	Ensaio Imunoenzimático
GALT -	Tecido Linfoide Associado ao Intestino
HCU -	Hospital de Clínicas de Uberlândia
HPIV -	Hemorragia Peri-intraventricular
IE -	Índice Elisa
Ig -	Imunoglobulina
IL -	Interleucina
LHB -	Leite Humano de Banco
MBP -	Muito Baixo Peso
RN -	Recém-Nascido
RNPT -	Recém-Nascido Pré-Termo
ROP -	Retinopatia da Prematuridade
TCLE -	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- $\beta$ -	Fator Transformador do Crescimento $\beta$
UFU -	Universidade Federal de Uberlândia
UTIN -	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
1.1 Sepses Neonatal e Enterocolite Necrosante .....	15
1.2 O Impacto do Leite Humano na Prevenção de Sepses e Enterocolite Necrosante .....	18
1.3 Métodos Alternativos para Utilização do Leite Humano: a Administração Orofaríngea .....	24
2. OBJETIVO .....	30
3. METODOLOGIA .....	32
3.1 Aspectos Éticos .....	33
3.2 Local do Estudo .....	33
3.3 Critérios de Inclusão e Exclusão .....	33
3.4 Desenho do Estudo .....	33
3.5 Procedimentos para Coleta de Dados .....	34
3.5.1 Obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	34
3.5.2 Obtenção, Armazenamento e Porcionamento do Colostro da Própria Mãe .....	34
3.5.3 Protocolo da Administração Orofaríngea .....	35
3.5.4 Coleta de Amostras de Sangue e Urina .....	36
3.5.5 Teste ELISA para Dosagem de IgA no Soro e Urina .....	36
3.5.6 Instrumento para Coleta de Dados .....	37
3.6. Definição dos Desfechos Clínicos .....	37
3.7 Análise Estatística .....	38
3.7.1 Cálculo do n-amostra <i>À Priori</i> .....	38
3.7.2 Verificação da Normalidade da amostra .....	38
3.7.3 Estatística Descritiva e Análise Exploratória dos Dados (Análise Univariada) .....	39
3.7.4 Estatística Inferencial (Testes de Hipóteses e Inferências) .....	39
3.7.5 Nível de Significância .....	39

4. RESULTADOS .....	40
5. DISCUSSÃO .....	49
6. CONCLUSÕES .....	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
Apêndices .....	66
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	67
Apêndice B – Instrumento para Coleta de Dados .....	69
Anexos .....	72
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa .....	73



Os importantes avanços em neonatologia nas últimas décadas resultaram em redução significativa na mortalidade de recém-nascidos pré-termo (RNPT) de muito baixo peso ao nascer (MBP), ou seja, aqueles com peso de nascimento inferior a 1.500 g. Entretanto, a maior sobrevivência destas crianças está associada a um aumento nas morbidades a curto e longo prazo, incluindo, infecções hospitalares, enterocolite necrosante, hemorragia intraventricular, leucomalácia periventricular e comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor caracterizado por déficits cognitivos e motores, déficits visuais e auditivos e paralisia cerebral (GLASS et al., 2015; RODRIGUEZ et al., 2010).

As infecções constituem as principais causas de morbi-mortalidade em RNPT e apresentam incidência variável, na literatura mundial, com estudos relatando de 1 a 5/1000 nascidos vivos até 40 a 170/1000 nascidos vivos (CORTESE et al., 2016). No RNPT MBP, a incidência descrita tem sido tão alta quanto 20 a 30% (HUANG et al., 2016).

No documento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013) “Critérios Nacionais de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde em Neonatologia” foi instituído um novo conceito para as infecções neonatais em geral, com o termo IRAS (Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde em Neonatologia), visando uma prevenção mais abrangente das infecções do período pré-natal, perinatal e neonatal. As IRAS afetam mais de 30% dos neonatos e, quando comparados à população pediátrica de maior idade seus índices podem ser até cinco vezes maiores. Estima-se que no Brasil, 60% da mortalidade infantil ocorra no período neonatal, sendo a sepse neonatal uma das principais causas (ANVISA, 2013).

### **1.1 Sepse Neonatal e Enterocolite Necrosante**

A sepse neonatal é uma síndrome clínica caracterizada por sinais sistêmicos de infecção acompanhados pela presença de bacteremia, no primeiro mês de vida, podendo ou não apresentar hemocultura positiva. A morbimortalidade significativa justifica a preocupação com o diagnóstico e o tratamento precoces (ANVISA, 2013; SILVEIRA; PROCIANOY, 2012; STOLL et al., 2011).

A apresentação clínica é, em geral, insidiosa, com sinais e sintomas muitas vezes inespecíficos, confundidos com condições próprias da idade e com a evolução por vezes instável do RNPT MBP (CALDAS et al., 2008). O diagnóstico de certeza é difícil porque não

há teste diagnóstico definitivo e a sensibilidade das culturas não ultrapassa 80%. Diante de um quadro sugestivo, especialmente, nos neonatos com fatores de risco para desenvolverem infecção, geralmente, opta-se pela indicação de terapia empírica com antibióticos. As avaliações sucessivas, clínicas e laboratoriais definirão a necessidade de manutenção ou suspensão da medicação (ANVISA, 2013; SILVEIRA; PROCIANNOY, 2012).

A sepse neonatal é classificada em precoce, quando ocorre nas primeiras 48 horas de vida e em tardia, se após as primeiras 48 horas de vida (ANVISA, 2013; SCCM Consensus Committee, 1992). A sepse neonatal precoce está relacionada a fatores pré-natais e próximos ao parto. O comprometimento é multissistêmico e o curso clínico algumas vezes fulminante. Os germes, quando identificáveis, pertencem ao trato genital materno sendo os mais frequentes nos Estados Unidos, *Streptococcus* do grupo B, no recém-nascido a termo, e *Escherichia coli*, no recém-nascido pré-termo (STOLL et al., 2011). Nos países em desenvolvimento, *Escherichia coli*, *Klebsiella species* e *Staphylococcus aureus* são os patógenos mais frequentes (SILVEIRA; PROCIANNOY, 2012). A sepse tardia está relacionada a fatores pós-natais em decorrência da hospitalização prolongada com necessidade de ventilação mecânica, nutrição parenteral, uso de cateteres permanentes, tubos endotraqueais e outros procedimentos invasivos, além da transmissão horizontal por meio das mãos dos cuidadores e da equipe assistencial (DE SOUZA RUGOLO et al., 2014; RANGEL et al., 2014; STOLL et al., 2011). Os micro-organismos hospitalares são os principais agentes; bactérias Gram-negativas, *S. aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* e os fungos (DE SOUZA RUGOLO et al., 2014; ZAIDI et al., 2009).

A sepse tardia, que se manifesta após 48 horas da admissão hospitalar, é particularmente importante devido à alta prevalência e associação com baixo ganho ponderal, aumento do tempo de internação hospitalar, sequelas neurológicas e um custo significativo para a família, os serviços de saúde e a sociedade. O risco de adquirir uma infecção hospitalar é inversamente proporcional ao peso e idade gestacional ao nascimento e está diretamente relacionado à gravidade do recém-nascido (SCCM Consensus Committee, 1992).

Além da sepse neonatal, a enterocolite necrosante (ECN) é outra causa importante de mortalidade e morbidade em RNPT. Aproximadamente 7% dos RNPT MBP desenvolvem ECN, 20 a 30% desses neonatos evoluem para o óbito e os sobreviventes apresentam risco substancial de complicações a longo prazo, incluindo retardo do desenvolvimento neuropsicomotor e síndrome do intestino curto (PATEL; DENNING, 2015). Apesar da patogênese da ECN não estar totalmente esclarecida, evidências atuais sugerem que a fisiopatologia é multifatorial e está relacionada à interação entre o nascimento prematuro, a

nutrição enteral, a alteração da microbiota intestinal e outros fatores potenciais (NEU, 2015; PATEL; DENNING, 2015).

A ECN é uma doença inflamatória aguda com necrose do intestino e pode ser a causa subjacente da sepse neonatal. A probabilidade de ECN é alta quando um recém-nascido apresenta-se com quadro de sepse por Gram-negativo, com manifestações clínicas e radiológicas abdominais (SHARMA et al., 2005). Chaaban et al. (2010) observaram que de 51 neonatos avaliados com sintomas abdominais inespecíficos, 12 apresentaram hemocultura positiva. As taxas de positividade são especialmente maiores em RNPT doentes. Trinta e quatro por cento dos RN com extremo baixo peso ao nascer (EBP), ou seja, aqueles com peso de nascimento inferior a 1.000 g, e 51% das crianças com idade gestacional inferior a 29 semanas apresentaram infecção da corrente sanguínea e ECN no estudo de Sharma et al (2005). Na verdade, dependendo da gravidade, 40-60% dos casos de ECN apresentam infecção da corrente sanguínea concorrente sendo que a bacteremia por Gram-negativos é a mais comum (SHARMA et al., 2005).

Dessa forma, os RNPT MBP internados nas Unidades de Terapia Intensiva Neonatais (UTIN) apresentam incidência significativa e preocupante de sepse tardia e ECN, e os neonatologistas, responsáveis pela assistência a esses recém-nascidos (RN), precisam lidar rotineiramente com a dificuldade diagnóstica devido aos sintomas inespecíficos e à baixa sensibilidade dos testes diagnósticos. Além disso, mesmo quando o diagnóstico é precoce e o tratamento adequado, o tempo de internação, os custos e o comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor continuam elevados (SANKAR et al., 2008; SHERMAN, 2010).

Dentro deste contexto, várias estratégias têm sido estudadas para reduzir a incidência de sepse tardia e ECN em RNPT.

Nas últimas décadas, a modificação da microbiota intestinal habitual e a colonização do intestino do RNPT com microbiota patogênica, tem sido descrita como o evento inicial na patogênese tanto da sepse tardia quanto da ECN. Esta microbiota patogênica promove injúria da barreira mucosa e facilita a translocação bacteriana do intestino para circulação sanguínea. Dessa forma, a otimização da microbiota intestinal nos RNPT pode reduzir o risco de sepse tardia e ECN. Estratégias capazes de aumentar as bactérias benéficas melhorando a diversidade da microbiota podem reduzir a colonização por organismos patogênicos, aumentar as bactérias comensais, reduzir a translocação bacteriana e diminuir a injúria intestinal (NEU, 2015; PATEL; DENNING, 2015).

Na literatura, existem algumas evidências que suportam o uso de probióticos na prevenção de sepse e ECN em RNPT. Os probióticos são suplementos orais contendo uma quantidade suficiente de micro-organismos viáveis que alteram a microflora do RN com benefícios potenciais a sua saúde. Uma meta-análise baseada em nove estudos randomizados e controlados envolvendo aproximadamente 1.400 RNPT, com peso menor ou igual a 2.500 g ao nascimento, mostrou que o uso de probiótico enteral diminuiu significativamente a incidência e a mortalidade por ECN (ALFALEH et al., 2014). O Comitê de Nutrição da Academia Americana de Pediatria, entretanto, não recomenda o uso de probióticos em RN, especialmente RNPT, até que mais estudos comprovem o seu real benefício (ALFALEH et al., 2014; SANTOS; TRISTRAM, 2015; THOMAS et al., 2010).

Por outro lado, existem escassas evidências para a recomendação do uso de prebióticos para os RNPT. Os prebióticos são compostos nutricionais não digeríveis presentes naturalmente ou como suplementos alimentares que favorecem o crescimento de bactérias probióticas como as *Bifidobacterium* spp. Muitos estudos relatam que a adição de prebióticos nas fórmulas infantis aumenta significativamente o conteúdo de bifidobactérias nas fezes sem efeitos colaterais. Entretanto, a eficácia clínica não foi comprovada para favorecer a análise da relação custo-benefício (SANTOS; TRISTRAM, 2015; THOMAS et al., 2010).

Diante disso, a literatura mundial é unânime ao considerar o leite humano como a melhor fonte natural de pré e probióticos e de componentes imune-protetores capazes de diminuir a incidência de sepse e ECN em RN (MEIER et al., 2010; PATEL; DENNING, 2015; SANTOS; TRISTRAM, 2015; UNDERWOOD, 2013).

## **1.2 O Impacto do Leite Humano na Prevenção de Sepse e Enterocolite Necrosante**

O RNPT MBP é particularmente susceptível aos agravos infecciosos pois a imunidade inata está comprometida pela baixa produção de citocinas, pela diminuição da expressão de moléculas de adesão nos neutrófilos e sua resposta reduzida a fatores quimiotáticos. Os níveis séricos das imunoglobulinas IgM e IgA são muito reduzidos, a formação ativa de anticorpos da classe IgG ainda é deficiente, as várias frações do sistema complemento estão em concentrações baixas, o sistema imune de mucosas é pouco eficiente e a atividade das células T-citotóxicas também está comprometida no período neonatal. Além disso, a passagem transplacentária de anticorpos inicia-se durante o segundo trimestre e

alcança a velocidade máxima durante o terceiro trimestre. Como resultado, os RNPT MBP apresentam uma significativa redução da resposta humoral (GRASSI; COSTA; VAZ, 2001; MADDUX; DOUGLAS, 2015; ZEA-VERA; OCHOA, 2015).

Existem evidências substanciais sobre o impacto do leite humano (LH) na maturação do sistema imune do RNPT MBP e a redução no risco de morbidades a curto e longo prazo, dentre elas, intolerância alimentar, sepse tardia, ECN, displasia broncopulmonar (DBP), retinopatia da prematuridade (ROP), atraso do desenvolvimento neuropsicomotor e re-hospitalização após a alta da UTIN (MEIER et al., 2010; TURFKRUYER; VERHASSELT, 2015; UNDERWOOD, 2013;). O LH determina proteção através de propriedades sinérgicas nutricionais, bioativas, imune-moduladoras e epigenéticas. Recentemente, o efeito do LH nestas morbidades tem sido descrito com relação dose dependente, indicando que maiores quantidades determinam maior redução no risco. Além disso, parece haver períodos críticos durante a internação na UTIN, especialmente importantes que os RN recebam o leite humano e para que se evite o uso de fórmulas. Estes períodos têm sido descritos como os primeiros 14 ou 28 dias de vida (JOHNSON et al., 2014).

O efeito protetor do LH para o risco de adquirir infecções durante a internação hospitalar na UTIN é atribuído a uma multiplicidade de componentes imunológicos, ou seja, milhares de moléculas bioativas que protegem contra a inflamação e infecção, promovem a maturação do sistema imune, o desenvolvimento de órgãos e a colonização com uma microbiota saudável (BALLARD; MORROW, 2013). Além disso, estudos recentes sugerem relação inversa entre as concentrações dos componentes imune-protetores no leite, especialmente no colostro, e a duração da gestação, sugerindo que os mesmos têm um papel biológico importante nos RNPT MBP nos primeiros dias de vida (ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011; FERREIRA; ABDALLAH, CAMELO JUNIOR, 2015; LAWRENCE; LAWRENCE, 2011; RONAYNE DE FERRER et al., 2000).

O colostro é o leite secretado inicialmente enquanto as junções celulares do epitélio mamário estão abertas permitindo o transporte paracelular de vários componentes imunológicos protetores da circulação materna para o leite materno. Estas junções fecham-se gradualmente nos primeiros dias após o nascimento e fundem-se com o início da lactogênese II, também conhecida como a “descida do leite”. Assim, o colostro é um leite rico em citocinas e outros fatores imunes, com propriedades bacteriostáticas, bactericidas, antivirais, anti-inflamatórias e imune-moduladoras protegendo contra infecções (RODRIGUEZ et al., 2009).

Os fatores de defesa presentes no LH podem ser divididos em quatro grupos: antimicrobianos, anti-inflamatórios, imunomoduladores e leucócitos (neutrófilos, macrófagos e linfócitos) (GRASSI; COSTA; VAZ, 2001).

A imunoglobulina A (IgA), lactoferrina, lisozima, oligossacarídeos, mucina, fibronectina e complemento constituem os principais fatores antimicrobianos do LH. As citocinas, os antioxidantes (catalase, lactoferrina, alfa-tocoferol, beta-caroteno), as antiproteases (alfa<sub>1</sub> anti-tripsina e inibidor da elastase), os fatores de crescimento, prostaglandina E<sub>1</sub> e E<sub>2</sub> e alguns dos fatores com atividade antimicrobiana, são as principais substâncias com atividade anti-inflamatória. Os imunomoduladores são principalmente as citocinas, nucleotídeos, prostaglandina E<sub>2</sub> e prolactina (ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011; GRASSI; COSTA; VAZ, 2001).

A IgA é a principal imunoglobulina do LH e constitui a maior parte do conteúdo proteico do colostro atingindo até 90% no primeiro dia de lactação. Encontra-se predominantemente em sua forma dimérica com duas moléculas de IgA, a cadeia J e o componente secretor ou peça de transporte que une as duas moléculas e forma o complexo dimérico IgA-secretor. A resultante é mais estável e resistente à digestão péptica (ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011; GRASSI; COSTA; VAZ, 2001).

A nutriz secreta no leite IgA específica, que protege a criança de patógenos aos quais foi exposta durante toda a vida. Os tecidos linfóides do intestino materno têm papel central neste sistema imune-êntero-mamário. Os antígenos ingeridos pela mãe estimulam as células plasmáticas intestinais que saem do sistema linfático para a corrente sanguínea. Por um mecanismo denominado “homing” estas células são transportadas para as glândulas exócrinas, onde produzem IgA específica. Esta protege a superfície mucosa do trato gastrointestinal e respiratório do RN contra a ação de vários patógenos (ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011; GRASSI; COSTA; VAZ, 2001).

A IgA presente no LH tem como principal ação a ligação a micro-organismos e macromoléculas, impedindo sua aderência às superfícies mucosas e o contato de patógenos com o epitélio. Outros mecanismos de ação de IgA envolvem a neutralização das toxinas liberadas por patógenos e a prevenção da translocação bacteriana através da barreira epitelial. A proteção contra translocação bacteriana é muito eficiente e envolve os fatores de crescimento presentes no LH. A IgA não tem atividade opsonizante mas pode induzir a fagocitose pelos neutrófilos. Apresenta ainda uma ação sinérgica com a lisozima e complemento (ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011; GRASSI; COSTA; VAZ, 2001).

O LH é rico em citocinas e proteínas, presentes na fase aquosa do leite, com atividades imune-moduladoras. São produzidas por diversas células do LH após estimulação e contribuem de forma significativa nos mecanismos de defesa das mucosas nos RN (GRASSI; COSTA; VAZ, 2001).

O fator transformador do crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e as interleucinas 6 e 10 (IL-6 e IL-10) são importantes para o desenvolvimento e diferenciação das células produtoras de IgA e os estudos mostram uma correlação positiva na concentração destas citocinas com a IgA no colostro e também no leite maduro (GIDREWICK; FENTON, 2014).

O fator de crescimento epidérmico é abundante no leite humano e tem um papel essencial no desenvolvimento e proteção do trato gastrointestinal. Os estudos demonstram maiores concentrações deste componente em mães de RNPT. Além disso, foi observado uma correlação negativa do fator de crescimento epidérmico com o peso ao nascer. A IL-8, importante para a maturação local e desenvolvimento intestinal, também apresenta correlação inversa com o peso de nascimento sugerindo que as concentrações dos fatores bioativos no leite humano são moduladas pelas necessidades do RNPT. Entretanto, os mecanismos para este fenômeno não são conhecidos (GIDREWICK; FENTON, 2014).

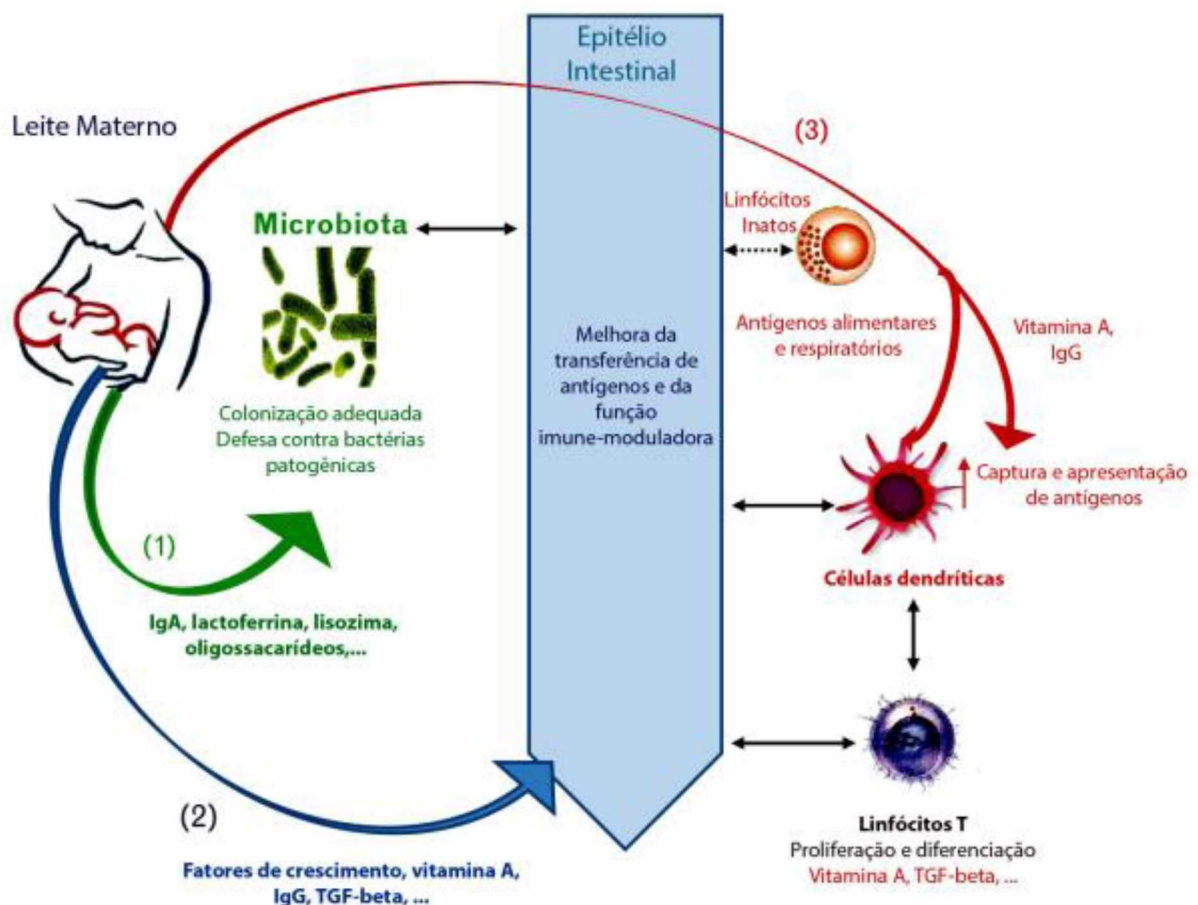
A lactoferrina, outro constituinte do LH, é uma proteína glicosilada que apresenta propriedades bactericidas, bacteriostáticas, antivirais, anti-inflamatórias, e imune-moduladoras. A ação bacteriostática deve-se à ligação com micro-organismos ferro-dependentes. Cada molécula de lactoferrina pode ligar-se a dois átomos de ferro, limitando o crescimento bacteriano. Ela também interrompe o processo pelo qual a bactéria metaboliza carboidratos e pode ligar-se à B<sub>12</sub> privando os micro-organismos dessa vitamina. Assim como a IgA, a lactoferrina encontra-se em concentrações elevadas no colostro, é resistente às enzimas digestivas e excretada em altos níveis na urina e nas fezes de recém-nascidos alimentados com leite humano. O aparecimento de lactoferrina na urina demonstra absorção sistêmica podendo ser um indício de sua influência na resposta do recém-nascido às infecções. A lactoferrina também é capaz de proteger contra infecções através da inibição da adesão das bactérias patogênicas às células da mucosa orofaríngea. Quando deglutida pode determinar uma barreira protetora semelhante no trato gastrointestinal (GRASSI; COSTA; VAZ, 2001; MANZONI et al., 2010; PAMMI; ABRAMS, 2015; RONAYNE DE FERRER et al., 2000; TARNOW-MORDI; ISAACS; DUTTA, 2010).

A lisozima é uma proteína presente em taxas elevadas no LH. Está presente nos vacúolos de fagócitos e nos fluidos extracelulares. É uma enzima lítica que atua diretamente sobre a bactéria quebrando o peptídeoglicano de sua parede, potencializa a ação da IgA e do

complemento e tem papel anti-inflamatório que limita o fator quimiotático dos neutrófilos e a geração de radicais tóxicos durante a fagocitose, protegendo as células intestinais.

Os oligossacarídeos presentes no LH são carboidratos complexos solúveis capazes de inibir a aderência e a consequente invasão de patógenos ao epitélio intestinal. Além disso, constituem fonte de energia para a microbiota intestinal não patogênica estimulando sua proliferação e a competição com a flora patogênica (ANDREAS et al., 2016).

De modo geral, uma multiplicidade de fatores bioativos atuam em conjunto, e como ilustra a Figura 1, permitem a colonização intestinal com a microbiota adequada (1), permitem o funcionamento adequado da barreira intestinal, melhoram a transferência de antígenos, inibem respostas inflamatórias epiteliais (2) e induzem respostas antigênicas específicas adequadas, a longo prazo, favorecendo a maturação do sistema imune a curto e longo prazo (3) (TURFKRUYER; VERHASSELT, 2015).



(Fonte: TURFKRUYER; VERHASSELT, 2015).

**Figura 1. Interação do leite materno com o sistema imune e o desenvolvimento da função imune neonatal a curto e longo prazo.**

Considerando o efeito da idade gestacional na concentração destes fatores, estudos demonstram que o colostro de mães de RNPT apresenta maiores quantidades de compostos bioativos quando comparado às mães de RNT. Os mecanismos responsáveis pela diferença na composição do leite ainda não estão estabelecidos. Tem sido sugerido que a situação desfavorável do RNPT devido à imaturidade do sistema imune precisa ser compensada através do aumento na proporção dos componentes bioativos no leite. Assim, o leite de mães de RNPT apresenta uma rápida adaptação imunológica às necessidades do RN (BALLARD; MORROW, 2013; GIDREWICK; FENTON, 2014; LAWRENCE; LAWRENCE, 2011; SUNDEKILDE et al., 2016). Entretanto, alguns compostos bioativos foram observados em menores concentrações no leite de mães de RNPT menores de 30 semanas sugerindo que abaixo desta idade gestacional, a adaptação da lactação, ou seja, a resposta materna compensatória não é tão eficiente como em idades gestacionais maiores (GIDREWICK; FENTON, 2014).

Diante dos benefícios do LH e por ser considerado um sistema biológico dinâmico espécie-específico, quando o leite da própria mãe não está disponível a Organização Mundial de Saúde recomenda, como melhor alternativa, o uso do leite humano doado através dos Bancos de Leite Humano (BLH) depois de passar pelo processo de pasteurização. Este processo é mandatório para a inativação de agentes virais e bacterianos do LH e consiste de uma fase de aquecimento rápido seguida de uma fase em que a temperatura é mantida constante e de uma fase final de resfriamento rápido (PEILA et al., 2016). A pasteurização altera as propriedades nutricionais e biológicas do LH mas os estudos ainda são inconclusivos sobre o real efeito nos componentes bioativos e imunológicos (PEILA et al., 2016; VIEIRA et al., 2011). Evidências atuais sugerem que as proteínas, como imunoglobulinas e lactoferrina, são as mais afetadas, que os oligossacarídeos não são afetados, e que o efeito sobre as citocinas e fatores de crescimento permanece indefinido (PEILA et al., 2016). Meta-análise realizada por Boyd, Quigley e Brocklehurst (2007) demonstrou menor risco de ECN em RNPT alimentados com leite humano doado em comparação com a fórmula infantil. Justifica-se, portanto, o uso do leite humano de banco (LHB) como melhor opção na indisponibilidade do LH da própria mãe (PATEL; DENNING, 2015; PEILA et al., 2016; VIEIRA et al., 2011).

### 1.3 Métodos Alternativos para Utilização do Leite Humano: a Administração Orofaríngea

Apesar de todas as evidências dos benefícios do leite humano na nutrição do RNPT, na prática clínica a alimentação enteral é muitas vezes postergada, em especial nos RNPT MBP, em decorrência de várias situações como a asfixia perinatal, instabilidade hemodinâmica e sinais de intolerância alimentar como distensão abdominal, resíduos gástricos volumosos, biliosos ou hemorrágicos (CORPELEIJN et al., 2011; FERREIRA; ABDALLAH; CAMELO JUNIOR, 2015; KIM et al., 2013).

Pensando nos benefícios do uso do LH da própria mãe e na dificuldade para o início precoce (< 48 horas de vida) da dieta enteral, métodos alternativos para administração do colostro têm sido investigados, tais como administração orofaríngea de colostro (RODRIGUEZ et al., 2009, 2010), lavagem gástrica com colostro (PATEL; SHAIKH, 2007) e higiene oral com colostro em RN em ventilação mecânica (THIBEAU; BOUDREAUX, 2013), com indícios de que seriam seguros e viáveis para realização em RNPT MBP internados na UTIN, nas primeiras horas de vida.

A administração orofaríngea de colostro corresponde à administração de pequenas quantidades de colostro diretamente na mucosa oral na expectativa de que os fatores imunológicos protetores presentes no colostro sejam absorvidos pela mucosa orofaríngea e possam estimular o sistema imune. Rodriguez et al. (2015) sugeriram cinco mecanismos através dos quais esta estimulação poderia proteger o RNPT contra a sepse tardia e a ECN: 1) interação das citocinas presentes no colostro com as células do sistema imune presentes na orofaringe; 2) absorção de fatores bioativos pela mucosa orofaríngea; 3) formação de uma barreira de proteção contra os patógenos; 4) efeitos locais e sistêmicos dos oligossacarídeos presentes no colostro com modulação da microbiota intestinal e 5) efeitos anti-oxidantes protetores (RODRIGUEZ et al., 2009, 2010, 2015).

O sistema de tecido linfoide associado à mucosa (MALT) consiste em estruturas linfoides posicionadas estrategicamente para proteger os sistemas respiratório e gastrointestinal contra patógenos. O sistema MALT é constituído pelo tecido linfoide associado à orofaringe (OFALT) localizado nas tonsilas palatinas e adenoides; pelo tecido linfoide associado aos brônquios localizado no epitélio respiratório; e pelo tecido linfoide associado ao intestino (GALT) localizado no apêndice e placas de Peyer (RODRIGUEZ et al., 2009, 2015).

As células linfoides do sistema MALT podem interagir com citocinas exógenas como as presentes no colostro humano. As citocinas são moléculas mensageiras que podem ser sintetizadas e rapidamente secretadas por muitas células, incluindo as células imunes, em resposta a um antígeno externo ou estímulo de outras citocinas. Uma vez sintetizadas, as citocinas podem ativar ou suprimir a função da célula que lhe deu origem ou das células vizinhas. As citocinas também podem estimular ou inibir a produção de outras citocinas e assim determinar sinergismo ou antagonismo com a formação de uma rede complexa de comunicação entre as células durante a resposta imune, conhecida como “sinalização”. Dentre as várias funções, algumas citocinas podem estimular a atividade das células T e B e a produção de imunoglobulinas, incluindo a IgA (RODRIGUEZ et al., 2009).

Quando as células linfoides do GALT são expostas a determinadas citocinas exógenas, ocorre a estimulação de linfócitos T que transferem a mensagem a outros linfócitos intestinais. Estes linfócitos intestinais podem migrar para sítios distantes transmitindo o sinal de ativação mediado por citocinas para células em sítios inflamatórios e em outros tecidos imunes. Uma vez atingido seu destino em linfonodos, baço, cérebro e outros órgãos, os linfócitos ativados podem liberar citocinas anti-inflamatórias que inibem a inflamação em tecidos vizinhos. Assim, um pequeno estímulo associado ao GALT pode resultar em um aumento da ativação imune ou em uma resposta anti-inflamatória em órgãos distantes, dependendo das citocinas liberadas e das células imunes ativadas ao longo da via de sinalização. Dessa forma, as mensagens para comunicação celular são significativamente amplificadas (RODRIGUEZ et al., 2009).

O leite humano contém inúmeras citocinas anti e pró-inflamatórias, entretanto, o efeito do leite materno é essencialmente anti-inflamatório. Quando o colostro é administrado na orofaringe supõe-se que ocorra estimulação das células linfoides do OFALT (tecido linfoide associado à orofaringe) pelos constituintes bioativos do colostro, especialmente, pelas citocinas, que migrariam para locais distantes e transmitiriam um sinal de ativação citocina-mediada para outras células de sítios inflamatórios ou outros tecidos imunes resultando em uma ativação imunológica amplificada bem como uma resposta anti-inflamatória de órgãos à distância. Além disso, a administração orofaríngea poderia ativar também respostas semelhantes no GALT em decorrência da deglutição do colostro (RODRIGUEZ et al., 2009).

Estudos sugerem que a administração orofaríngea de colostro da própria mãe pode funcionar como uma terapia imune para o RNPT, especialmente, o de EBP, devido aos efeitos imune-estimuladores sistêmicos que potencialmente protegem contra as infecções (GEPHART; WELLER, 2014; RODRIGUEZ et al., 2009, 2015).

A partir desta proposição foram realizados trabalhos iniciais (MONTGOMERY et al., 2010; RODRIGUEZ et al., 2010) para avaliar a segurança e viabilidade da administração orofaríngea de colostro e, posteriormente, surgiram alguns trabalhos para avaliar a eficácia da administração orofaríngea de colostro como terapia imune (Quadros 1 e 2).

Rodriguez et al. (2011) estudaram 15 RNPT EBP que foram randomizados para receberem administração orofaríngea de colostro (9 RN) ou placebo (6 RN) e não encontraram diferenças significativas na dosagem de biomarcadores (IgA, lactoferrina e IL-10) no soro, urina e aspirado traqueal entre os grupos estudados. Observaram, entretanto, que o grupo que recebeu colostro alcançou a dieta enteral plena (150 mL/Kg/dia) 10 dias antes, comparado ao grupo placebo, com diferença estatisticamente significativa.

Seigel et al. (2013) conduziram um coorte retrospectiva a partir da instituição da administração orofaríngea de colostro da própria mãe como protocolo na UTIN. Foram avaliados 280 RNPT EBP antes da instituição do protocolo e 89 RNPT EBP após. Não foram encontradas diferenças significativas na mortalidade, na incidência de ECN e perfuração intestinal espontânea. Observaram, entretanto, um maior ganho ponderal nas crianças que receberam a administração orofaríngea de colostro com 36 semanas de idade corrigida.

**Quadro 1. Estudos sobre a administração orofaríngea de colostro em recém-nascidos pré-termo, de 2010 a 2011.**

Referência	População Estudada	Objetivos	Desenho do Estudo	Resultados
Rodriguez et al., 2010	5 RNPT EBP	Determinar a segurança e viabilidade da administração orofaríngea de colostro da própria mãe.	Prospectivo; 5 RNPT EBP receberam administração orofaríngea de colostro (0,2 mL 2/2 h por 48 h, iniciando nas primeiras 48 h de vida); Dosagem de IgA e lactoferrina na urina e secreção traqueal.	Não foram observados efeitos adversos.
Montgomery et al., 2010	46 RNPT MBP	Determinar a viabilidade da administração orofaríngea de colostro.	Prospectivo; 46 RNPT MBP receberam 0,2 mL de colostro de 3/3 h por 7 dias consecutivos.	A administração orofaríngea é viável com as seguintes limitações: 1. 80-90% das mães de RNPT MBP puderam suprir o colostro para a administração; 2. O colostro geralmente não estava disponível para administração antes de 2 dias de vida; 3. 75 a 80% das administrações programadas foram realizadas.
Rodriguez et al., 2011	16 RNPT EBP	Determinar se a administração orofaríngea de colostro tem efeito imuno-estimulatório.	Estudo randomizado; 9 RNPT EBP receberam administração orofaríngea de colostro e 6 de placebo (0,2 mL de 2/2 h por 48 h); Dosagem de IgA e lactoferrina no aspirado traqueal e urina e de IL-10 no aspirado traqueal e soro antes e após o tratamento.	Não foi observado diferença significativa na dosagem dos biomarcadores; Os RN do grupo experimental alcançaram a dieta enteral plena (150 mL/Kg/d) 10 dias antes do grupo placebo.

Legenda: RNPT: recém-nascido pré-termo; EBP: extremo baixo peso; mL: mililitros; h: horas; IgA: imunoglobulina A; MBP: muito baixo peso; %: porcentagem; IL: interleucina; RN: recém-nascido; Kg: quilo; d: dia

**Quadro 2. Estudos sobre a administração orofaríngea de colostro em recém-nascidos pré-termo, de 2013 a 2015.**

Referência	População Estudada	Objetivos	Desenho do Estudo	Resultados
Seigel et al., 2013	RNPT EBP	Comparar a incidência de ECN, perfuração intestinal espontânea e a mortalidade antes e após a implementação do protocolo de administração orofaríngea de colostro.	Estudo de coorte retrospectivo; 280 RNPT EBP antes da instituição do protocolo e 89 após (0,2 mL 4/4 h por 5 dias).	Não houve diferença na incidência de ECN, perfuração intestinal espontânea e na mortalidade entre os grupos; O grupo que recebeu o colostro apresentou peso maior com 36 semanas.
Lee et al., 2015	42 RNPT EBP	Determinar os efeitos imuno-estimulatórios da administração orofaríngea de colostro.	Estudo clínico, randomizado, duplo-cego, placebo controlado; 21 RNPT EBP receberam colostro e 21 receberam placebo (0,2 mL 3/3 h por 3 dias com início nas primeiras 48 a 96 h de vida); Dosagem de IgA, lactoferrina, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1 e IL-8 na urina e saliva nas primeiras 24 h de vida, com 8 e 15 dias.	Maiores níveis de IgA e lactoferrina na urina no grupo tratado com 1 semana; Menores níveis de IL-1 $\beta$ na urina no grupo tratado com 2 semanas; Menores níveis de TGF- $\beta$ 1 e IL-8 na saliva no grupo tratado com 2 semanas; Redução significativa na incidência de sepse clínica no grupo tratado.
Rodriguez et al., 2015	622 RNPT	Comparar os efeitos da administração orofaríngea do colostro da própria mãe com placebo para desfechos clínicos importantes incluindo redução na incidência de sepse tardia (desfecho primário) além de ECN e mortalidade (desfechos secundários).	Estudo clínico, multicêntrico, randomizado, duplo-cego; 0,2 mL de 2/2 h por 48 h e a seguir 3/3 h até 32 semanas de idade corrigida.	Publicado o protocolo do estudo, mas ainda não foram publicados os resultados.

Legenda: RNPT: recém-nascido pré-termo; EBP: extremo baixo peso; ECN: enterocolite necrosante; mL: mililitro; h: horas; IgA: imunoglobulina A; IL: interleucina; TGF: fator transformador do crescimento.

Um estudo clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado com um número pequeno de RNPT EBP foi conduzido por Lee et al. (2015). Eles avaliaram 42 crianças sendo 21 do grupo tratado e 21 do grupo placebo e encontraram redução significativa na incidência de sepse clínica. Relataram ainda diferenças significativas nas dosagens dos biomarcadores no grupo que recebeu colostro: dosagens urinárias maiores de IgA com 1 e 2 semanas; dosagens urinárias maiores de lactoferrina com 1 semana; dosagens urinárias menores de IL-1 $\beta$  com 2 semanas; dosagens menores na saliva de TGF- $\beta$ 1 e IL-8 com 2 semanas.

O Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCU-UFU) é uma unidade de referência regional para atendimento de RNPT, em especial, de muito baixo peso ao nascer e apresenta protocolos clínicos elaborados pela equipe multidisciplinar de acordo com as melhores práticas estabelecidas pela medicina baseada em evidência.

O uso do leite humano na alimentação do RNPT já faz parte do protocolo de assistência do Serviço de Neonatologia e o Banco de Leite Humano (BLH) do HCU-UFU garante sua disponibilidade durante a internação e incentiva a continuidade da amamentação após a alta hospitalar.

A administração orofaríngea de colostro pode ser iniciada mais precocemente do que a alimentação do RNPT e, teoricamente, poderia antecipar o efeito protetor contra infecções e funcionar como uma terapia imune reduzindo a morbi-mortalidade destes RNPT de risco.

Considerando as características locais e a parceria entre a Unidade Neonatal e o BLH foi desenhado este estudo para testar a hipótese de que a administração orofaríngea de colostro (colostroterapia) reduziria o número de infecções nos RNPT MBP e poderia também contribuir para a redução da mortalidade e do tempo de internação.

*Objetivo*

---

**Objetivo Geral:**

Avaliar o efeito da administração orofaríngea de colostro na estimulação do sistema imune e na prevenção de infecções em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer do Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Uberlândia, da Universidade Federal de Uberlândia.

**Objetivos Específicos:**

- 1- Comparar o tempo de internação entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro;
- 2- Comparar a morbidade, em especial a incidência de sepse tardia e enterocolite necrosante, entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro;
- 3- Comparar a mortalidade entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro; e
- 4- Comparar a concentração de IgA no soro e na urina entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro.



### **3.1 Aspectos Éticos**

A pesquisa foi realizada após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob parecer número 333.886 (ANEXO 1) da Universidade Federal de Uberlândia e foi registrada no ClinicalTrials.gov (NCT02912585).

As mães dos RNPT foram previamente informadas e consultadas sobre a participação de seus filhos no estudo e as que concordaram foram solicitadas a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (APÊNDICE A).

### **3.2 Local do Estudo**

O estudo foi realizado no Serviço de Neonatologia do HCU-UFU.

### **3.3 Critérios de Inclusão e Exclusão**

Foram incluídos na pesquisa todos os RNPT com idade gestacional menor que 34 semanas e peso de nascimento menor que 1.500 g nascidos no Serviço de Neonatologia do HCU-UFU no período de 15 de julho de 2013 a 15 de julho de 2015.

Foram excluídos os RN com malformações congênitas, com história materna de uso recente de drogas ilícitas (< 72h antes da internação para o parto) e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e vírus linfotrópico da célula T humana (HTLV) e que foram a óbito nos primeiros dias de vida antes de concluir o protocolo de administração orofaríngea.

### **3.4 Desenho do Estudo**

Foi realizado um estudo clínico prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo controlado.

Os RN foram divididos de forma randomizada e cega em dois grupos para a administração orofaríngea ou não de colostro da própria mãe:

- Grupo Colostro: RNPT submetidos à administração orofaríngea de colostro da própria mãe.
- Grupo Placebo: RNPT submetidos à administração orofaríngea de água destilada.
- Grupo LHB: As crianças randomizadas para o Grupo Colostro mas que por qualquer razão o colostro não estava disponível, constituíram um terceiro grupo e foram submetidas à administração orofaríngea de leite humano de banco (Grupo LHB).

### **3.5 Procedimentos para Coleta de Dados**

#### **3.5.1 Obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Nas primeiras 24 horas após o nascimento, a mãe de cada RNPT MBP elegível para o estudo foi abordada para explicar todos os detalhes incluindo a randomização dos grupos estudados, o protocolo de ordenha e administração orofaríngea do colostro.

As mães que consentiram com a participação de seus filhos no estudo assinaram o TCLE.

#### **3.5.2 Obtenção, Armazenamento e Porcionamento do Colostro da Própria Mãe**

Todas as mães foram encaminhadas ao BLH do HCU-UFU para retirada do colostro com técnica asséptica através de ordenha manual ou do uso de bomba elétrica disponível no serviço (Bomba Tira Leite Mini Eletric – Medela).

O colostro ordenhado foi identificado e mantido no BLH sob refrigeração.

A randomização dos grupos foi realizada pela responsável pelo BLH através de sorteio antes do início do estudo. Foi sorteada uma sequência de 30 números para colostro ou placebo e esta sequência foi repetida até o final do estudo.

Logo após a obtenção do TCLE a responsável pelo BLH era informada sobre a inclusão do RN no estudo e consultava a sequência de randomização para preparo das seringas para administração orofaríngea.

O volume total de colostro da própria mãe necessário para a administração orofaríngea era de 4,8 mL e este volume foi administrado em alíquotas de 0,2 mL com intervalo de 2 horas por 48 horas.

A cada 12 horas eram preparadas 6 seringas (Seringa Descartável 100 UI) contendo 0,2 mL de colostro ou água destilada (placebo) de acordo com a randomização nos grupos. Para os RNPT MBP randomizados para o Grupo Colostro mas que o colostro não estava disponível foram preparadas 6 seringas de 0,2 mL com LHB.

As seringas foram identificadas com o nome do RN e recobertas por micropore bege (Fita Micropore 3M Pele 25mmx 10m<sup>®</sup>) para que não fosse identificado o seu conteúdo. A seguir foram encaminhadas à UTIN, sob refrigeração em caixas térmicas, para a administração orofaríngea, diariamente às 12 e 17 horas.

### **3.5.3 Protocolo da Administração Orofaríngea**

A administração orofaríngea foi iniciada nas primeiras 48 a 72 horas de vida.

Logo após a obtenção do TCLE, o médico responsável pelo RNPT MBP era solicitado a prescrever a administração orofaríngea de colostro na dose de 0,2 mL a cada 2 horas por 48 horas.

A administração foi realizada pela técnica de enfermagem responsável pelo RNPT MBP de acordo com a prescrição médica.

A técnica utilizada para administração orofaríngea foi descrita por Rodriguez et al. (2009). A seringa foi introduzida na lateral direita da boca do RN e direcionada para a orofaringe com posterior injeção de 0,1 mL. A seguir, a seringa foi posicionada na lateral esquerda da boca, direcionada para a orofaringe e injetado o volume de 0,1 mL restante.

Durante o procedimento, o RNPT permaneceu sob monitorização contínua da saturação de oxigênio e da frequência cardíaca através de oxímetro de pulso conforme rotina do serviço para os RN internados na UTIN.

A administração orofaríngea seria interrompida imediatamente se o RNPT apresentasse sinais de agitação, queda da saturação de oxigênio abaixo de 85% ou alteração significativa da frequência cardíaca.

Toda a equipe foi treinada para a administração orofaríngea antes do início do estudo.

O início da nutrição enteral foi determinada pelo médico assistente segundo o princípio da UTIN de que a alimentação deveria ser iniciada o mais rapidamente possível se

não houvesse contra indicação como, por exemplo, resíduos gástricos biliosos e/ou sanguinolentos, distensão abdominal e instabilidade hemodinâmica.

Todos os RNPT MBP receberam LH, da própria mãe ou de doadora, até o volume mínimo de 100 mL/Kg/dia. Após este volume o LH era fortificado ou o RN recebia fórmula para RNPT dependendo da disponibilidade do LH.

O aleitamento materno era iniciado assim que o RN estivesse com peso mínimo de 1.000 g e em condições clínicas de ser colocado no seio para sugar.

### **3.5.4 Coleta de Amostras de Sangue e Urina**

Foram coletadas amostras de sangue e urina dos RNPT MBP incluídos no estudo em 3 momentos: antes da administração orofaríngea (dia 1), após 24 horas (dia 4) e após 14 dias (dia 18).

As amostras de sangue foram obtidas como parte dos exames coletados de rotina na UTIN e não representaram, portanto, uma coleta adicional de sangue.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Imunologia da Universidade Federal de Uberlândia logo após a coleta, para dosagem de IgA.

### **3.5.5 Teste ELISA para Dosagem de IgA no Soro e Urina**

A IgA foi dosada em duplicata em amostras de urina e soro utilizando o Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

As amostras de sangue foram centrifugadas a 1.500 rpm por 10 minutos para separação do soro. Todas as amostras de soro e urina foram imediatamente armazenadas em freezer a -20°C até a realização da análise laboratorial.

Experimentos preliminares foram realizados para determinar as condições ideais do ELISA através da titulação dos reagentes.

Microplacas de poliestireno de alta afinidade (Costar Corning Incorporated, EUA) foram utilizadas como suporte para adsorção de 50 µL de anti-IgA humana na concentração ideal de 10 µg/mL isoladamente. As placas foram sensibilizadas a 4°C durante 18 horas em tampão carbonato-bicarbonato 0,06M, pH 9,6. Após este período as placas foram lavadas 3 vezes, por 5 minutos, com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS/T) e bloqueadas com leite desnatado a 5% (Molico, Nestlé, São Paulo, Brasil) por 1 hora em temperatura ambiente. A seguir, foram adicionadas 50 µL das amostras de soro diluídas 1:64 e urina pura e incubadas

em câmara úmida a 37°C por 2 horas para as amostras de soro e por 1 hora para as amostras de urina. Após 3 lavagens de 5 minutos com PBS/T foram adicionados às placas 50 µL de anti-IgA humana marcada com peroxidase (Sigma, St. Louis, EUA) na diluição de 1:4000 por período ideal de 1 hora a 37°C. Após 3 lavagens de cinco minutos em PBS/T, a reação foi revelada pela adição de 50 µL do substrato de peroxidase (ABTS, KPL, Kirdegaard & Perry Laboratories). A reatividade foi determinada através da medida da densidade óptica a 405 nm em leitor ELISA (Metrolab, Argentina). O valor de “cut off” foi definido pela média aritmética acrescida de 3 desvios-padrão, das densidades ópticas de 3 amostras padrão negativo.

Os valores foram arbitrariamente expressos como Índice ELISA (IE) e calculados através da seguinte fórmula:  $IE = (\text{absorbância da amostra testada} / \text{cut off})$ .

### 3.5.6 Instrumento para Coleta de Dados

Foi elaborada uma ficha (APÊNDICE B) para registro dos dados maternos, dos RNPT MBP, da administração orofaríngea e das dosagens de IgA no sangue e na urina.

## 3.6 Definição dos Desfechos Clínicos

O diagnóstico dos desfechos clínicos foi realizado de acordo com os protocolos da UTIN e, resumidamente, podem ser definidos da seguinte forma:

Sepse clínica: sinais clínicos e laboratoriais sugestivos de infecção acompanhados do uso de antibióticos por pelo menos 72 horas.

Sepse comprovada: crescimento bacteriano em pelo menos uma hemocultura em RN com sepsse clínica.

ECN: manifestações clínicas gastrintestinais, com comprometimento sistêmico e alterações radiológicas de acordo com a classificação de Bell (estágios II e III) (BELL et al., 1978).

DBP: dependência de oxigênio com 28 dias de vida (BANCALARI et al, 1979).

O diagnóstico de hemorragia peri-intraventricular (HPIV) e ROP foram realizados após avaliação de ultrassonografia de crânio e fundoscopia, respectivamente. Foram registrados os casos graves de HPIV (graus 3 e 4) e de ROP (grau 3).

A identificação do grupo ao qual pertenceu o paciente foi realizada apenas após a alta hospitalar do mesmo e após a realização das dosagens de IgA no sangue e urina.

### 3.7 Análise Estatística

#### 3.7.1 Cálculo do n-amostal *À Priori*

Foi calculado um n-amostal *à priori* de 145 sujeitos para se obter  $\alpha$  máximo de 0,05 e erro máximo da estimativa de 0,0814, aproximadamente 8%. Para isso foi usada a fórmula de cálculo (I) para população infinita sendo esse resultado validado por meio da fórmula (II) para população finita simulada em 500.000.000 de sujeitos.

$$(I) \quad n = \frac{z_{\alpha/2}^2 P(1-P)}{\varepsilon^2}$$

$$(II) \quad n = \frac{z_{\alpha/2}^2 NP(1-P)}{\varepsilon^2 (N-1) + z_{\alpha/2}^2 P(1-P)}$$

Considerando que nos 3 anos que antecederam a elaboração do projeto do estudo (2009-2011) a população total anual média de RNPT menores que 34 semanas de idade gestacional e menores que 1.500 g no Serviço de Neonatologia do HCU-UFU foi de 118 RN e considerando as possibilidades de perda, foi então programado a coleta de dados para aproximadamente 2 anos considerando o número total necessário de 145 RNPT MBP.

#### 3.7.2 Verificação da Normalidade da Amostra

Para verificação da normalidade da amostra foi realizado o Teste de D'Agostino Pearson e observado distribuição não normal.

### **3.7.3 Estatística Descritiva e Análise Exploratória dos Dados (Análise Univariada)**

Na estatística descritiva os resultados foram apresentados em frequência, porcentagem, mediana e intervalo interquartilico (1º e 3º quartis – 25-75%).

### **3.7.4 Estatística Inferencial (Testes de Hipóteses e Inferências)**

Para as variáveis categóricas nominais foram calculados Odds ratio, p valor, intervalo de confiança (IC) de 95% e o aumento do risco relativo.

Para as variáveis métricas ou qualitativas ordinais, na comparação entre os grupos, foram utilizados o teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney (dosagem de IgA) e teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Student-Newman-Keuls (escalas intervalares ou ordinais).

O teste exato de Fisher foi utilizado para a comparação de dados nominais com amostras pequenas.

### **3.7.5 Nível de Significância**

As análises foram realizadas utilizando-se dos softwares SPSS versão 21.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA), Bioestat versão 5.0 (Mamirauá<sup>TM</sup>, Belém, PA, Brasil).

Foram considerados significantes valores de  $p < 0,05$ .



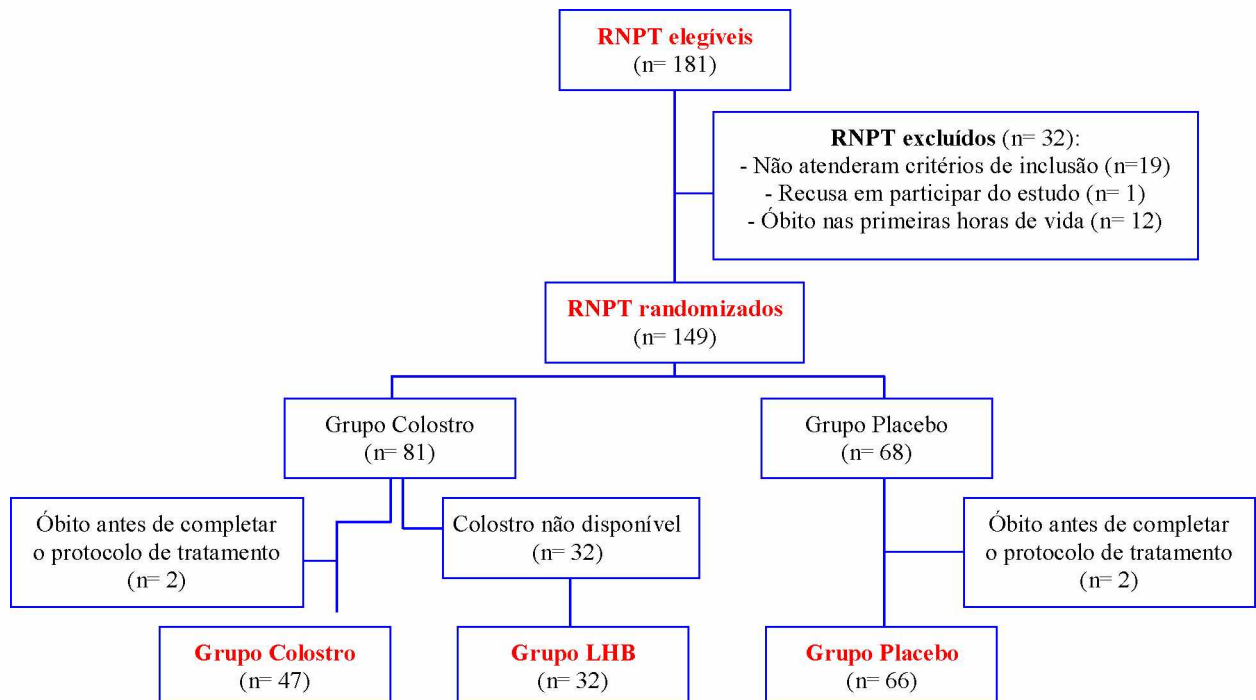
Foram considerados elegíveis para o estudo 181 RNPT MBP. Destes, 32 foram excluídos sendo 19 pelos critérios de exclusão (malformações congênitas, uso de drogas ou exposição ao vírus da imunodeficiência humana - HIV), 12 por óbito nas primeiras horas de vida e 1 por recusa da mãe em participar do estudo.

Foram então randomizados, 149 RNPT MBP sendo 81 para o Grupo Colostro e 68 para o Grupo Placebo.

Não foi possível a obtenção do colostro em 32 RNPT MBP randomizados para o Grupo Colostro e, por isso, estes RN foram incluídos em um terceiro grupo de RNPT MBP que receberam administração orofaríngea de LHB.

Após a composição dos grupos foram excluídos dois RNPT MBP do Grupo Colostro e dois do Grupo Placebo pois evoluíram para o óbito antes de completar o protocolo de tratamento.

Dessa forma, participaram do estudo 145 RNPT MBP sendo 47 do Grupo Colostro, 32 do Grupo LHB e 66 do Grupo Placebo como mostra a Figura 2.



**Figura 2. Fluxograma de inclusão dos RNPT MBP no estudo.**

Na Tabela 1 encontram-se as características demográficas e clínicas dos RNPT MBP incluídos, de acordo com os grupos estudados. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre eles.

Destaca-se entre os dados apresentados nesta tabela, o valor de Apgar com mediana menor que 7 no 1º minuto de vida, a elevada taxa de parto cesárea e um período relativamente curto de ventilação mecânica nos RN que necessitaram de suporte ventilatório.

O protocolo de administração orofaríngea foi iniciado com mediana variando de 39 a 44 horas nos três grupos. O tempo de internação variou de 64 a 66 dias.

A administração orofaríngea foi bem tolerada por todos os RNPT MBP e não foram observados efeitos adversos durante o protocolo de tratamento.

**Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo.**

Características <sup>1</sup>	Grupo Colostro (n= 47)	Grupo LHB (n= 32)	Grupo Placebo (n = 66)	p valor <sup>2</sup>
Idade gestacional (sem)	28 (27-30)	29 (27-29)	28 (26-31)	0,9171
Peso de nascimento (g)	1048 (787-1217)	1092 (931-1248)	1036 (801-1206)	0,4667
RNPT EBP (n / %)	20 (42)	11 (34)	32 (48)	
Sexo masculino (n / %)	23 (49)	17 (53)	39 (59)	
Apgar 1 min	6 (4-7)	5 (3-7)	5 (4-7)	0,6872
Apgar 5 min	8 (8-9)	8 (6-9)	8 (7-9)	0,4649
Parto cesárea (n / %)	38 (80)	19 (59)	47 (71)	0,1156
Corioamnionite (n / %)	5 (11)	4 (12)	12 (18)	
Esteróide antenatal (n / %)	35 (74)	19 (59)	53 (80)	
SNAPPE	29 (19-44)	24 (14-35)	26 (19-48)	0,3045
Ventilação mecânica (d)	2 (0-5)	2,5 (0-7)	2 (0-7)	0,7485
Início do protocolo (h)	44 (38-51)	39 (32-48)	43 (38-49)	0,2704
Tempo de internação (d)	66 (48-84)	64 (39-84)	64 (49-79)	0,6972

Legenda: LHB: leite humano de banco; n: número; sem: semanas; g: gramas; RNPT EBP: recém-nascido pré-termo de extremo baixo peso; %: porcentagem; min: minutos; SNAPPE: score para fisiologia neonatal aguda; d: dias; h: horas.

<sup>1</sup>. Valores expressos em mediana (intervalo interquartilico) e número absoluto (porcentagem). <sup>2</sup>Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Student-Newman-Keuls.

Analisados os resultados dos dados nutricionais, os três grupos estudados não

apresentaram diferença estatisticamente significativa na comparação entre eles (Tabela 2).

Em geral, os RNPT MBP iniciaram a alimentação enteral nos primeiros 3 dias de vida sendo que em todos este início ocorreu com leite humano e foi mantido até pelo menos 100 mL/Kg/dia de dieta enteral. A recuperação do peso de nascimento ocorreu com aproximadamente 15-16 dias de vida e eles necessitaram de nutrição parenteral (NPP) por aproximadamente 14-15 dias.

**Tabela 2. Características nutricionais dos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo.**

<b>Características nutricionais<sup>1</sup></b>	<b>Grupo Colostro (n = 47)</b>	<b>Grupo LHB (n = 32)</b>	<b>Grupo Placebo (n = 66)</b>	<b>p valor<sup>2</sup></b>
Início DE (d)	3 (2-5)	3 (2-4)	3 (2-5)	0,4638
Menor peso (g)	860 (649-1032)	876 (730-1077)	858 (658-1004)	0,4516
Menor peso (d)	4 (3-6)	4 (3-5)	4 (3-5)	0,7496
Recuperação PN (d)	16 (11-19)	15 (13-17)	16 (13-21)	0,2490
100 mL/Kg DE (d)	16 (13-22)	17 (13-22)	18 (15-20)	0,4516
150 mL/Kg DE (d)	20 (18-26)	22 (12-22)	24 (18-25)	0,4376
NPP (d)	14 (11-18)	15 (11-20)	14 (10-20)	0,5461
P 36 sem (g)	1692 (1524-1905)	1719 (1616-1862)	1680 (1486-1821)	0,6518
P alta (g)	2145 (2030-2455)	2245 (2035-2526)	2160 (2045-2381)	0,5973

*Legenda: LHB: leite humano de banco; n: número; DE: dieta enteral; d: dias; g: gramas; PN: peso de nascimento; mL/Kg: mililitros por quilo; NPP: nutrição parenteral; P: peso; sem: semanas.*

<sup>1</sup> Valores expressos em mediana (intervalo interquartilico); <sup>2</sup> Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Student-Newman-Keuls.

Na avaliação da evolução clínica dos RNPT MBP, a Tabela 3 mostra que não houve diferença estatisticamente significativa no número de casos de sepse clínica, sepse comprovada, ECN, HPIV e ROP graves, DBP e óbitos entre os grupos.

Observamos uma baixa incidência de ECN em todos os grupos estudados.

**Tabela 3. Evolução clínica dos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo.**

<b>Evolução clínica</b>	<b>Grupo Colostro (n= 47)</b>	<b>Grupo LHB (n= 32)</b>	<b>Grupo Placebo (n= 66)</b>	<b>Odds</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>ARR</b>
Sepse clínica (n / %)	21 (45)	15 (47)	34 (51)	0,7602 <sup>a</sup> 0,8304 <sup>b</sup> 1,0924 <sup>c</sup>	0,3-1,6 <sup>a</sup> 0,3-1,9 <sup>b</sup> 0,4-2,7 <sup>c</sup>	6,8 <sup>a</sup> 4,6 <sup>b</sup> 2,2 <sup>c</sup>
Sepse confirmada (n / %)	11 (23)	9 (28)	20 (30)	0,7028 <sup>a</sup> 0,9000 <sup>b</sup> 1,2806 <sup>c</sup>	0,3-1,6 <sup>a</sup> 0,3-2,3 <sup>b</sup> 0,4-3,6 <sup>c</sup>	6,9 <sup>a</sup> 2,2 <sup>b</sup> 4,7 <sup>c</sup>
ECN (n / %)	1 (2)	0	1 (1,5)	-	-	-
HPIV grau 3-4 (n / %)	0	1 (3)	2 (3)	-	-	-
ROP grau 3 (n / %)	5 (11)	1 (3)	4 (6)	1,7553 <sup>a</sup> 0,5156 <sup>b</sup> 3,4043 <sup>c</sup>	0,4-6,9 <sup>a</sup> 0,05-4,8 <sup>b</sup> 0,4-30,5 <sup>c</sup>	3,9 <sup>a</sup> 2,7 <sup>b</sup> 6,6 <sup>c</sup>
DBP (n / %)	21 (45)	11 (34)	33 (50)	0,8077 <sup>a</sup> 0,5238 <sup>b</sup> 0,6485 <sup>c</sup>	0,4-1,7 <sup>a</sup> 0,2-1,2 <sup>b</sup> 0,2-1,6 <sup>c</sup>	5,3 <sup>a</sup> 15,6 <sup>b</sup> 10,3 <sup>c</sup>
Óbito (n / %)	2 (4)	3 (9)	8 (12)	3,2727 <sup>a</sup> 1,4061 <sup>b</sup> 0,4296 <sup>c</sup>	0,7-16,2 <sup>a</sup> 0,3-5,7 <sup>b</sup> 0,07-2,7 <sup>c</sup>	8,4 <sup>a</sup> 3,3 <sup>b</sup> 5,1 <sup>c</sup>

Legenda: LHB: leite humano de banco; IC: intervalo de confiança de 95%; ARR: aumento do risco relativo: <sup>a</sup>Grupos Colostro e Placebo; <sup>b</sup>Grupos LHB e Placebo; <sup>c</sup>Grupos Colostro e LHB; n: número; %: porcentagem; ECN: enterocolite necrosante; HPIVC: hemorragia peri-intraventricular; ROP: retinopatia da prematuridade; DBP: displasia broncopulmonar.

A comparação das dosagens de IgA no soro e urina não mostrou diferença estatística significativa entre os grupos.

Observamos que, tanto no soro quanto na urina, os valores de IgA encontrados no dia 1, antes do início do tratamento, e no dia 4, 24 horas após o término do tratamento, foram semelhantes. Entretanto, houve um aumento no dia 18, 14 dias após o término do tratamento.

**Tabela 4. Dosagem sérica e urinária de IgA nos recém-nascidos de muito baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo.**

Dosagem <sup>1</sup>	Grupo Colostro (n= 47)	Grupo LHB (n= 32)	Grupo Placebo (n= 66)	p valor <sup>a</sup>	p valor <sup>b</sup>	p valor <sup>c</sup>
<b>Dosagem sérica (IE)</b>						
Dia 1	1,7 (1,2-2,7)	1,8 (1,1-2,3)	1,8 (1,2-2,6)	0,8715	0,5565	0,4841
Dia 4	1,6 (1,1-3,4)	1,5 (0,9-2,6)	2,2 (1,4-3,2)	0,2567	0,0841	0,5020
Dia 18	3,8 (1,9-5,0)	2,9 (1,6-4,3)	3,6 (2,2-4,6)	0,7674	0,3253	0,2690
<b>Dosagem urinária (IE)</b>						
Dia 1	0,7 (0,5-0,9)	0,8 (0,6-1,1)	0,7 (0,5-1,0)	0,7986	0,2744	0,3231
Dia 4	0,7 (0,6-1,0)	0,7 (0,6-0,9)	0,8 (0,6-1,1)	0,7300	0,3400	0,5289
Dia 18	2,0 (1,1-4,8)	4,9 (1,1-8,2)	2,9 (1,2-6,6)	0,5229	0,5275	0,3195

Legenda: LHB: leite humano de banco; n: número; IE: índice ELISA.

<sup>1</sup> Valores expressos em mediana (intervalo interquartilico). Teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney para comparação entre os grupos: <sup>a</sup> Grupos Colostro e Placebo; <sup>b</sup> Grupos LHB e Placebo; <sup>c</sup> Grupos Colostro e LHB.

Considerando que os RNPT EBP são ainda mais vulneráveis às infecções, apresentam maiores dificuldades para o início da dieta enteral e ainda para permitir a comparação com alguns poucos estudos publicados anteriormente, optamos pela análise dos dados referentes a este grupo particular de RNPT.

Conforme demonstrado na Tabela 1, foram 20 (42%) RNPT EBP no Grupo Colostro, 11 (34%) RNPT EBP no Grupo LHB e 32 (48%) RNPT EBP no Grupo Placebo.

Na Tabela 5 encontram-se as características nutricionais dos RNPT EBP e, novamente, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

De modo semelhante ao observado para todos os RNPT MBP, neste grupo particular de RNPT EBP o início da alimentação enteral ocorreu nos primeiros 3 a 4 dias de vida e todos receberam leite humano até pelo menos 100 mL/Kg/dia de dieta enteral. A recuperação do peso de nascimento ocorreu com aproximadamente 16 dias de vida e necessitaram de nutrição parenteral por um tempo um pouco maior, de 16-19 dias de vida.

**Tabela 5. Características nutricionais dos recém-nascidos de extremo baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo.**

<b>Características nutricionais<sup>1</sup></b>	<b>Grupo Colostro (n = 20)</b>	<b>Grupo LHB (n = 11)</b>	<b>Grupo Placebo (n = 32)</b>	<b>p valor<sup>2</sup></b>
Início DE (d)	4 (3-5)	4 (2-5)	3 (2-7)	0,9315
Menor peso (g)	609 (522-688)	620 (544-728)	634 (492-734)	0,9551
Menor peso (d)	4 (3-6)	4 (2-5)	4 (3-6)	0,6338
Recuperação PN (d)	16 (13-21)	15 (14-16)	16 (12-20)	0,3683
100 mL/Kg DE (d)	20 (15-31)	18 (18-24)	19 (19-24)	0,8648
150 mL/Kg DE (d)	24 (19-36)	25 (22-28)	24 (24-29)	0,9364
NPP (d)	16 (14-23)	18 (9-23)	19 (14-24)	0,7977
P 36 sem (g)	1691 (1372-1789)	1719 (1574-1719)	1680 (1382-1708)	0,8242
P alta (g)	2204 (2039-2492)	2285 (1375-2602)	2152 (2041-2255)	0,1300

*Legenda: LHB: leite humano de banco; n: número; DE: dieta enteral; d: dias; g: gramas; PN: peso de nascimento; mL/Kg: mililitros por quilo; NPP: nutrição parenteral; P: peso; sem: semanas.*

<sup>1</sup> Valores expressos em mediana (intervalo interquartilico); <sup>2</sup> Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Student-Newman-Keuls.

Na análise da evolução clínica dos RNPT EBP também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes como mostra a Tabela 6. Entretanto, observamos um aumento importante das principais morbidades em comparação ao grupo geral de RNPT MBP, especialmente, na incidência de sepse tardia, com até 91% de sepse clínica e 64% de sepse confirmada no Grupo LHB.

**Tabela 6. Evolução clínica dos recém-nascidos de extremo baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo.**

<b>Evolução clínica</b>	<b>Grupo Colostro (n= 20)</b>	<b>Grupo LHB (n= 11)</b>	<b>Grupo Placebo (n= 32)</b>	<b>p valor<sup>1</sup></b>
Sepse clínica (n / %)	14 (70)	10 (91)	21 (66)	0,7721 <sup>a</sup> 0,1393 <sup>b</sup> 0,3717 <sup>c</sup>
Sepse confirmada (n / %)	6 (30)	7 (64)	13 (41)	0,5579 <sup>a</sup> 0,2947 <sup>b</sup> 0,1277 <sup>c</sup>
ECN (n / %)	1 (5)	0	1 (3)	0,6259 <sup>a</sup> 0,7442 <sup>b</sup> 0,6452 <sup>c</sup>
HPIV grau 3-4 (n / %)	3 (15)	3 (27)	3 (9)	0,6644 <sup>a</sup> 0,3122 <sup>b</sup> 0,6381 <sup>c</sup>
ROP grau 3 (n / %)	4 (20)	1 (9)	3 (9)	0,4076 <sup>a</sup> 0,7335 <sup>b</sup> 0,6310 <sup>c</sup>
DBP (n / %)	15 (75)	6 (54)	22 (69)	0,7574 <sup>a</sup> 0,4732 <sup>b</sup> 0,4232 <sup>c</sup>
Óbito (n / %)	1 (5)	3 (27)	8 (25)	0,1287 <sup>a</sup> 0,9978 <sup>b</sup> 0,2729 <sup>c</sup>

*Legenda: LHB: leite humano de banco; n: número; %: porcentagem; ECN: enterocolite necrosante; HPIV: hemorragia peri-intraventricular; ROP: retinopatia da prematuridade; DBP: displasia broncopulmonar.*

<sup>1</sup>Teste Exato de Fisher: <sup>a</sup> Grupos Colostro e Placebo; <sup>b</sup> Grupos LHB e Placebo; <sup>c</sup> Grupos Colostro e LHB.

A Tabela 7 mostra a dosagem sérica e urinária de IgA dos RNPT EBP sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Novamente, é demonstrado um aumento dos níveis séricos e urinários de IgA do dia 1 para o dia 18, em todos os grupos.

Entretanto, um aspecto que chamou a atenção é que a dosagem sérica de IgA no dia 4 no Grupo Colostro foi mais elevada que nos demais grupos com um p valor limítrofe de 0,0752.

**Tabela 7. Dosagem sérica e urinária de IgA nos recém-nascidos de extremo baixo peso que receberam colostro, leite humano de banco e placebo**

Dosagem <sup>1</sup>	Grupo Colostro (n= 20)	Grupo LHB (n= 11)	Grupo Placebo (n= 32)	p valor
<b>Dosagem sérica (IE)</b>				
Dia 1	1,7 (1,1-2,6)	2,2 (1,1-3,2)	1,8 (1,3-2,5)	0,9203
Dia 4	2,2 (1,2-2,8)	1,3 (0,85-1,5)	2,1 (1,5-2,7)	0,0752
Dia 18	3,8 (2,2-5,0)	2,6 (1,4-3,4)	3,5 (2,7-4,0)	0,2530
<b>Dosagem urinária (IE)</b>				
Dia 1	0,8 (0,6-2,3)	0,8 (0,6-0,9)	0,7 (0,6-0,9)	0,3155
Dia 4	0,7 (0,6-1,0)	0,7 (0,6-0,7)	0,8 (0,6-1,2)	0,4900
Dia 18	2,2 (1,0-4,7)	5,2 (0,7-7,0)	4,6 (1,6-7,7)	0,3479

Legenda: LHB: leite humano de banco; n: número; IE: índice ELISA.

<sup>1</sup> Valores expressos em mediana (intervalo interquartilico). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Student-Newman-Keuls.

*Discussão*

---

O LH é sem dúvida a melhor opção na nutrição dos RNPT MBP e a sua utilização consiste em uma medida importante na prevenção de sepse tardia e ECN para os RN internados nas UTIN (MEIER et al., 2010; TURFKRUYER; VERHASSELT, 2015; UNDERWOOD, 2013).

O grande desafio dos neonatologistas tem sido, entretanto, iniciar precocemente a nutrição com LH neste grupo de RN pois com frequência a alimentação precisa ser postergada pela instabilidade clínica ou por sinais de intolerância como distensão abdominal, resíduos volumosos, biliosos ou sanguinolentos (CORPELEIJN et al., 2011; FERREIRA; ABDALLAH; CAMELO JUNIOR, 2015; KIM et al., 2013).

Diante disso, métodos alternativos para administração do LH, como a administração orofaríngea, têm sido sugeridos na tentativa de antecipar os benefícios do uso do LH enquanto estes RNPT MBP não se apresentam em condições de iniciar a nutrição enteral (RODRIGUEZ et al., 2009, 2010).

O presente estudo surgiu, portanto, da necessidade de confirmação dos reais benefícios do uso do leite humano, através da administração orofaríngea, especialmente, na prevenção de sepse tardia e ECN.

Alguns artigos foram publicados descrevendo de forma teórica sobre estes benefícios mas poucos estudos foram realizados para confirmação dessas teorias (GEPHART; WELLER, 2014; RODRIGUEZ et al., 2009). Além disso, os poucos estudos realizados apresentam desenhos metodológicos não muito robustos, contam com um número pequeno de RN e utilizaram protocolos diferentes de administração orofaríngea de colostro dificultando as comparações (LEE et al., 2015; RODRIGUEZ et al., 2011; SEIGEL et al., 2013).

A proposta deste estudo foi incluir todos os RNPT MBP pois em países em desenvolvimento, como o nosso, este grupo de RN apresenta elevadas taxas de morbidade e mortalidade quando comparadas aos países desenvolvidos onde a principal preocupação tem sido os RNPT EBP. Nossa hipótese foi que todos os RNPT MBP poderiam beneficiar-se da administração orofaríngea de colostro.

Após o desenho inicial, ao iniciarmos a randomização dos RNPT MBP nos grupos tratamento e controle, nos deparamos com os RNPT MBP alocados para o grupo experimental para os quais não foi possível obter o colostro de sua própria mãe. Esta é uma dificuldade frequentemente encontrada na rotina das UTIN para se iniciar e manter a alimentação enteral. Uma forma de superá-la tem sido a utilização do leite humano doado através dos BLH, tanto como substituto como para complementação do volume necessário (PEILA et al., 2016).

Foi considerada, então, a hipótese de que na indisponibilidade do colostro da própria mãe os RN poderiam beneficiar-se do uso do LHB. Apesar de conhecidos os efeitos da pasteurização sobre o LH e a redução dos fatores bioativos, em especial da IgA, ainda assim, o LHB poderia ter algum benefício para a administração orofaríngea em comparação ao placebo (PATEL; DENNING, 2015; PEILA et al., 2016). Não encontramos qualquer referência sobre isso na literatura pesquisada e este estudo é inédito nesta avaliação até o presente momento.

Após o treinamento da equipe para a administração orofaríngea e a realização do protocolo de tratamento nos RNPT MBP, não observamos qualquer dificuldade para a administração, qualquer efeito colateral e nenhum dos RN requereu que a administração fosse interrompida, sugerindo que é viável e segura no ambiente da UTIN. Nossos achados são coincidentes com os da literatura conforme relatado por Montgomery et al. (2010) e Rodriguez et al. (2010) que pesquisaram sobre a viabilidade e segurança da administração orofaríngea.

Considerando as características demográficas e clínicas dos RNPT MBP distribuídos nos grupos colostro, LHB e placebo, observamos que eles foram muito semelhantes não sendo observado diferenças importantes entre eles que pudessem interferir nas comparações realizadas a seguir (Tabela 1).

Na análise geral dos RNPT MBP, chamou-nos a atenção o valor de Apgar no 1º minuto de vida com mediana menor que 7. Entretanto, houve recuperação no 5º minuto de vida permitindo inferir que as medidas adotadas na sala de parto para reanimação destes RN foram satisfatórias (Tabela 1). As condições de nascimento e as medidas implementadas na sala de parto podem interferir de forma importante nas condições clínicas e evolução dos RN, especialmente MBP, retardando a introdução e progressão da dieta enteral (CORPELEIJN et al., 2011; KIM et al., 2013).

Outro aspecto a ser considerado é a elevada taxa de parto cesárea (Tabela 1) que está muito acima do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) de 15% (REIS et al., 2014). Além dos riscos já estabelecidos na literatura mundial para a mãe e o RN, recentemente, o parto cesárea tem sido implicado na modificação da microbiota habitual, especialmente, da pele e intestino dos RN (CABRERA-RUBIO et al., 2012). Da mesma forma, estudos têm correlacionado a alteração da microbiota intestinal com a colonização intestinal deficiente ou anormal e o aumento do risco de sepse tardia e ECN (PATEL; DENNING, 2015).

Apesar das taxas elevadas de cesárea descritas no Brasil, a situação no HCU-UFU é preocupante e não se justifica por tratar-se de hospital de referência para gestação de alto risco pois nossas taxas superam o que seria aceitável mesmo considerando partos de risco (BRASIL, 2012; REIS et al., 2014; SOUZA et al., 2010). Entretanto, é necessário ressaltar que muitas dessas gestantes são referidas em trabalho de parto prematuro sem o devido acompanhamento prévio e sem a adoção de medidas preventivas que poderiam reduzir esse número. Algumas ações têm sido instituídas no sentido de reduzir esta prática sendo uma delas a participação no Projeto Parto Adequado que é uma iniciativa conjunta da Agência Nacional de Saúde Suplementar, do Hospital Israelita Albert Einstein, do *Institute for Healthcare Improvement* e do Ministério da Saúde com o objetivo de mudar o modelo de atenção ao parto, promovendo o parto normal, qualificando os serviços de assistência no pré-parto, parto e pós-parto e favorecendo a redução de cesáreas desnecessárias e de possíveis eventos adversos decorrentes de um parto não adequado.

Considerando o tempo de internação, nossa hipótese inicial foi que a administração orofaríngea, na medida em que pudesse reduzir a incidência de sepse tardia, poderia ter impacto também sobre o tempo de internação dos RNPT MBP. Nossos dados, entretanto, não confirmaram esta hipótese e nos poucos estudos realizados até o momento esta variável não foi considerada.

Com o surgimento dos primeiros estudos relacionados à administração orofaríngea de colostro começaram a surgir alguns indícios de que esta prática poderia ter influência na evolução nutricional dos RNPT. Rodriguez et al. (2011) observaram que os RNPT que receberam administração orofaríngea de colostro alcançaram dieta enteral plena (150 mL/Kg/dia) 10 dias antes, comparado ao grupo placebo e Seigel et al. (2013) observaram maior peso com 36 semanas no grupo tratado. Nossos dados, todavia, não demonstraram qualquer diferença entre os grupos quanto às características nutricionais.

Observamos que os RNPT MBP incluídos no estudo iniciaram dieta enteral com mediana de 3 dias. O protocolo da Unidade onde foi realizado o estudo está de acordo com a literatura que recomenda o início o mais precoce possível da nutrição enteral para favorecer a maturação, a colonização adequada e permitir a integridade intestinal, especialmente importantes para a prevenção de sepse tardia e ECN. Estes benefícios são ainda mais evidentes com a utilização do LH na nutrição dos RNPT MBP (ABDALLAH; FERREIRA, 2015; DUTTA et al., 2015; HAY JR., 2013; HO; YEN, 2016).

Outra vantagem do protocolo da Unidade e que beneficiou os 3 grupos estudados foi o início da dieta enteral com LH, seja da própria mãe ou do BLH, que foi mantido até se

atingir o volume de pelo menos 100 mL/Kg/dia. Apenas depois de alcançado este volume é que foi considerado o uso de fórmula para pré-termo nos casos em que a mãe não fosse presente e/ou que a quantidade de LHB fosse limitada.

Dessa forma, como a mediana de início da administração orofaríngea variou entre os grupos entre 39 e 44 horas, a maior parte dos RN incluídos no estudo já haviam iniciado dieta enteral com LH antes do término do protocolo de administração orofaríngea e estavam sendo beneficiados dos efeitos do LH nos sistemas imune e gastrointestinal.

Quanto à evolução clínica dos RNPT MBP o desfecho mais importante na elaboração do projeto de pesquisa foi a sepse tardia de acordo com a proposição de estudos anteriores sobre a administração orofaríngea de colostro (GEPHART; WELLER, 2014; RODRIGUEZ et al., 2009). Além disso, foi avaliada a ECN, mas conhecendo a epidemiologia da Unidade que apresenta baixa incidência de ECN considerou-se que fosse difícil demonstrar o impacto da administração orofaríngea sobre esta patologia. De fato, o número de ocorrências nos 3 grupos foi tão pequeno no período estudado que impossibilitou o cálculo do odds ratio e aumento do risco relativo.

Não houve diferença entre os grupos na incidência de sepse clínica e sepse confirmada e a administração orofaríngea de colostro e LHB não pôde ser considerada como fator protetor para a ocorrência destas morbidades, conforme hipótese inicial.

Seigel et al. (2013) também não observaram diferenças quanto a incidência de ECN e perfuração intestinal espontânea em estudo de coorte realizado para avaliar os resultados antes e após a instituição do protocolo de administração orofaríngea de colostro em RNPT EBP. Por outro lado, estudo randomizado, duplo cego, placebo controlado com apenas 42 RNPT EBP conduzido por Lee et al. (2015) demonstrou redução significativa na incidência de sepse clínica no grupo que recebeu administração orofaríngea de colostro.

Com relação as outras morbidades, tanto a incidência de ROP quanto a de DBP não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados e não foi demonstrado efeito protetor da administração orofaríngea de colostro e LHB em comparação ao grupo placebo. Quanto à HPIV, da mesma forma como ocorreu para ECN, não houve diferença na incidência entre os 3 grupos e não foi possível o cálculo do odds ratio e aumento do risco relativo pelo pequeno número de ocorrências nos grupos (Tabela 3). Até o presente momento não há estudos na literatura que considerem o efeito da administração orofaríngea sobre outras morbidades além da sepse tardia e ECN.

No tocante à mortalidade, o presente estudo também não mostrou diferenças entre os grupos na incidência como também quanto à possibilidade de um efeito protetor nos

grupos tratados em relação ao placebo. Lee et al. (2015) e Seigel et al. (2013) também não observaram diferenças nos óbitos entre os grupos estudados.

Na avaliação dos biomarcadores foi realizada a dosagem de IgA no soro e na urina. A IgA é a principal imunoglobulina do LH e está presente em altas concentrações no colostro mas também no leite de transição e maduro (ABDALLAH; FERREIRA, 2015; ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011). Níveis elevados de IgA sérica e na urina dos RNPT MBP poderiam ser interpretados como a presença em maior quantidade na circulação para excreção em decorrência da sua absorção pela mucosa oral e também gastrointestinal, conforme sugerido nos estudos sobre a teoria do efeito protetor da administração orofaríngea de colostro (RODRIGUEZ et al., 2009).

O presente estudo, entretanto, não confirmou esta teoria pois as dosagens de IgA foram semelhantes nos 3 grupos nos 3 momentos estudados: antes (dia 1), após 24 horas (dia 4) e após 14 dias (dia 18) do término do tratamento. Comparando as dosagens nos 3 momentos avaliados, observamos um aumento do dia 1 para o dia 18 em todos os grupos. Não estão estabelecidos na literatura os valores esperados dos biomarcadores, incluindo a IgA, nos diversos fluidos corporais de acordo com a idade cronológica e a idade gestacional dificultando interpretações deste achado, entretanto, consideramos que o aumento observado poderia ser justificado pelo fato de nesta última avaliação os RNPT MBP já receberem o LH na nutrição enteral (Tabela 4).

Rodriguez et al. (2011) em estudo prospectivo randomizado com apenas 15 RNPT EBP não observaram diferenças entre os grupos na dosagem de IgA no aspirado traqueal e urina antes e após o tratamento. Neste mesmo estudo foi avaliado a dosagem de IL-10 no aspirado traqueal e soro sem diferenças entre os grupos.

Por outro lado, Lee et al. (2015) observaram maiores níveis de IgA e lactoferrina na urina uma semana após o tratamento. Eles avaliaram também as citocinas pró-inflamatórias e demonstraram menores níveis de IL-1 $\beta$  na urina no grupo tratado duas semanas após o tratamento e menores níveis de TGF- $\beta$ 1 e IL-8 na saliva no grupo tratado também com duas semanas.

Com a análise destes resultados e da observação de que a administração orofaríngea não apresentou impacto sobre a evolução nutricional, sobre a incidência de sepse tardia, sobre as dosagens de IgA no soro e urina, sobre o tempo de internação e demais morbidades e mortalidade considerou-se que este efeito não foi demonstrado neste estudo, em especial, pelo uso do LH na alimentação de todos os RNPT MBP.

Para estes RNPT que apresentam características peculiares de imaturidade do trato gastrointestinal, tornando-os mais suscetíveis às agressões e à colonização bacteriana com patógenos altamente nocivos, a abordagem nutricional pode reduzir o risco de sepse tardia e ECN. O início precoce da dieta e o uso do LH na nutrição têm sido descritas como medidas eficazes para este fim conforme ressaltado anteriormente (ABDALLAH; FERREIRA, 2015; DUTTA et al., 2015; HAY JR., 2013; HO; YEN, 2016).

Como o intestino é uma porta de entrada importante para os patógenos, a dieta enteral precoce estimula o crescimento e o amadurecimento da mucosa e das funções gastrointestinais favorecendo sua integridade e reduzindo o risco de invasão por micro-organismos nocivos (HO; YEN, 2016). Além disso, o uso do LH, considerado padrão ouro na alimentação dos RNPT MBP, reduz ainda mais este risco por conter inúmeras substâncias biologicamente ativas que determinam o amadurecimento estrutural e funcional do intestino e também do sistema imune, e ainda promove a colonização intestinal por lactobacilos e bifidobactérias, outro fator importante de proteção (MEIER et al., 2010; TURFKRUYER; VERHASSELT, 2015; UNDERWOOD, 2013).

As observações do presente estudo parecem reforçar a importância da dieta enteral precoce e do uso do LH na nutrição do RNPT MBP.

Vale ressaltar que a implementação do protocolo de administração orofaríngea gera mais trabalho e gastos para a UTIN pois o colostro ordenhado deve ser fracionado em seringas, conservado em geladeira e administrado nos horários estabelecidos após treinamento de toda a equipe.

Dessa forma, acredita-se que se todos os esforços forem concentrados para a obtenção do LH e o início precoce da dieta enteral, não seria necessário a utilização de métodos alternativos de administração do LH, como a administração orofaríngea, neste grupo de RNPT MBP.

Um grupo que talvez mereça maior atenção neste sentido seja o de RNPT EBP pois estes RN sabidamente apresentam maiores dificuldades para o início e progressão da dieta enteral (CORPELEIJN et al., 2011; FERREIRA; ABDALLAH; CAMELO JUNIOR, 2015; KIM et al., 2013).

Diante disso, e também para permitir uma melhor comparação com os poucos estudos publicados até o momento que consideram apenas RNPT EBP, foi analisado separadamente este grupo de RN.

Ao considerar apenas os RNPT EBP também não ocorreram diferenças quanto às características nutricionais. Estes RN iniciaram a dieta enteral com 3 a 4 dias semelhante ao observado na análise geral dos RNPT MBP.

A evolução clínica foi semelhante nos 3 grupos considerando a incidência de sepse clínica, sepse confirmada, ECN, HPIV, ROP, DBP e óbito apenas nos RNPT EBP. Entretanto, observou-se um aumento importante das principais morbidades, especialmente, de sepse tardia com até 91% de sepse clínica e 64% de sepse confirmada no Grupo LHB.

Considerando a dosagem sérica e urinária de IgA nos RNPT EBP, apenas no dia 4 houve diferença estatística moderada ( $0,05 < p < 0,08$ ) na dosagem sérica de IgA ao compararmos os 3 grupos de RN.

De acordo com os 3 estudos publicados anteriormente sobre a administração orofaríngea de colostro em RNPT EBP, Rodriguez et al. (2011) não observaram diferenças na incidência de sepse e na dosagem de biomarcadores e Seigel et al. (2013) não observaram diferenças na incidência de ECN e na mortalidade.

O único estudo que mostrou diferença na incidência de sepse e na dosagem de biomarcadores em RNPT EBP foi o de Lee et al. (2015). Apesar de ser um estudo mais adequado do ponto de vista metodológico por tratar-se de um estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado, envolveu um número muito pequeno de RN (42) e o uso de LH foi aproximadamente 20% durante e após 2 semanas do protocolo de tratamento, denotando uma baixa utilização de LH na rotina de nutrição da UTIN e, talvez, por isso justificando as diferenças observadas com a administração orofaríngea de colostro.

Nestes estudos realizados com RNPT EBP houveram pequenas diferenças no protocolo de administração orofaríngea em comparação com o presente estudo quanto ao intervalo e ao tempo total de administração, entretanto, o número total de doses administradas foi de 24. Apenas no estudo conduzido por Seigel et al. (2013) o número total foi de 30 doses.

Ao analisarmos apenas os RNPT EBP incluídos no presente estudo, o número de RN reduz para 63 e a amostra torna-se mais limitada para permitir generalizações.

O presente estudo apresenta como limitação um número pequeno de recém-nascidos em cada grupo. Mais estudos são necessários para comprovar o efeito benéfico da administração orofaríngea de colostro em especial nos RNPT EBP que parecem ser os que mais poderiam se beneficiar deste método alternativo de utilização do LH.

Entretanto, uma medida comprovadamente importante para a redução de sepse tardia e ECN, em RNPT MBP, e também nos EBP, é o início precoce da dieta enteral com o LH. Dessa forma, os principais esforços devem ser direcionados para este objetivo.





- 1- Não foram encontradas diferenças no tempo de internação entre os RNPT MBP submetidos e não submetidos à administração orofaríngea colostro;
- 2- Não foram encontradas diferenças nas características nutricionais entre os RNPT MBP submetidos e não submetidos à administração orofaríngea colostro;
- 3- Não foram encontradas diferenças nas morbidades, em especial na incidência de sepse tardia e enterocolite necrosante, entre os RNPT MBP submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro;
- 4- Não foram encontradas diferenças na mortalidade entre os RNPT MBP submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro;
- 5- Não foram encontradas diferenças na concentração de IgA no soro e na urina entre os RNPT MBP submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de colostro;
- 6- Nossos dados parecem corroborar para a importância do início precoce da nutrição com LH na redução da incidência de sepse e enterocolite necrosante nos RNPT MBP e reforçam que todos os esforços devem ser concentrados para alcançar este fim.

## *Referências Bibliográficas<sup>1</sup>*

---

---

<sup>1</sup> De acordo com a NBR 6023, de agosto de 2012.

- ABDALLAH, V. O. S.; FERREIRA, D. M. L. M. Uso do colostro na alimentação do recém-nascido pré-termo: vantagens e dificuldades. In: Sociedade Brasileira de Pediatria; PROCIANOY, R. S.; LEONE, C. R. (Org.). **PRORN Programa de Atualização em Neonatologia**. Ciclo 13. Porto Alegre: Artmed Panamericana, Sistema de Educação Continuada a Distância, v.4, p. 9-27, 2015.
- ALFALEH, K. et al. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. **The Cochrane Database Systematic Reviews**, Oxford, v. 4, p. CD005496.A, 2014.
- ANDREAS, N. J. et al. Role of human milk oligosaccharides in Group B *Streptococcus* colonisation. **Clinical & Translational Immunology**, London, v. 5, n. 8, p. e99, Aug. 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde: Neonatologia**. 2013.
- ARAÚJO, E. D. et al. Evaluation of the secretory immunoglobulin A levels in the colostrum and milk of mothers of term and pre-term newborns. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 9, n. 5, p. 357-362, Oct. 2005.
- BALLARD, O.; MORROW, A. L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. **Pediatric Clinics of North America**, Philadelphia, v. 60, n. 1, p. 49-74, Feb. 2013.
- BANCALARI, E. et al. Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. **The Journal of Pediatrics**, v. 95, p.819-23, 1979.
- BELL, M. et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 187, n. 1, p. 1-7, Jan. 1978.
- BOYD, C. A.; QUIGLEY, M. A.; BROCKLEHURST, P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: systematic review and meta-analysis. **Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition**, London, v. 92, n. 3, p. 169-175, May 2007.
- BRASIL. As cesarianas no Brasil: situação no ano de 2010, tendências e perspectivas. In: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Parte III. **Saúde Brasil 2011: uma análise da situação de saúde e a vigilância da saúde da mulher**. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2012. 444p. p. 371-397.
- CABRERA-RUBIO, R. et al. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda [Md], v. 96, n. 3, p. 544-551, Sept. 2012.
- CALDAS, J. P. S. et al. Accuracy of white blood cell count, C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha for diagnosing late neonatal sepsis. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 6, p. 536-542, Nov.-Dec. 2008.
- CASTELLOTE, C. et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. **The Journal of Nutrition**, Rockville [MD], v. 141, n. 6, p. 1181-1187, Jun. 2011.
- CHAABAN, H. et al. Inter-alpha inhibitor protein level in neonates predicts necrotizing enterocolitis. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis [MO], v. 157, n. 5, p. 757-761, Nov. 2010.

- CORPELEIJN, W. E. et al. Feeding very-low-birth-weight infants: our aspirations versus the reality in practice. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Basel, v. 58 (suppl 1), p. 20-29, 2011.
- CORTESE, F. et al. Early and late infections in newborns: where do we stand? A review. **Pediatrics and Neonatology**, Singapore, v. 57, n. 4, p. 265-273, Aug. 2016.
- DE SOUZA RUGOLO, L. M. et al. Late-onset sepsis in very low birth weight infants: a Brazilian Neonatal Research Network study. **Journal of Tropical Pediatrics**, London, v. 60, n. 6, p. 415-421, Dec. 2014.
- DUTTA, S. et al. Guidelines for feeding very low birth weight infants. **Nutrients**, Basel, v. 7, n. 1, p. 423-442, Jan. 2015.
- FERREIRA, D. M. L. M.; ABDALLAH, V. O. S.; CAMELO JUNIOR, J. S. Colostroterapia – a utilização do colostro como imunoterapia. In: Sociedade Brasileira de Pediatria; PROCIANOY R. S.; LEONE, C. R. (Org.). **PRORN Programa de Atualização em Neonatologia**: Ciclo 12. Porto Alegre: Artmed Panamericana, Sistema de Educação Continuada a Distância, v. 4, p. 9-26, 2015.
- GEPHART, S. M.; WELLER, M. Colostrum as oral immune therapy to promote neonatal health. **Advances in Neonatal Care**, Philadelphia, v. 14, n. 1, p.44-51, Feb. 2014.
- GIDREWICK, D. A.; FENTON, T. R. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. **BioMed Center Pediatrics**, London, v. 14, p. 216, Aug. 2014.
- GLASS, H. C. et al. Outcomes for extremely premature infants. **Anesthesia and Analgesia**, Cleveland, v. 120, n. 6, p. 1337-1351, Jun. 2015.
- GRASSI, M. S.; COSTA, M. T. Z.; VAZ, F. A. C. Fatores imunológicos do leite humano. **Pediatria**, São Paulo, v. 23, n. 3, p.258-263, 2001.
- HAY JR, W. W. Aggressive nutrition of the preterm infant. **Current Pediatrics Reports**, Heidelberg [Germany], v. 1, n. 4, p. 229-239, Dec. 2013.
- HO, M.-Y.; YEN, Y.-H. Trend of nutritional support in preterm infants. **Pediatrics and Neonatology**, Singapore, v. 57, n. 5, p. 365-370, Oct. 2016.
- HUANG, F. K. et al. Bird's eye view of neonatologist: clinical approach to emergency neonatal infection. **Pediatrics and Neonatology**, Singapore, v. 57, n. 3, p. 167-173, Jun. 2016.
- JOHNSON, T. J. et al. Economic benefits and costs of human milk feedings: a strategy to reduce the risk of prematurity-related morbidities in very-low-birth-weight infants. **Advances in Nutrition**, Bethesda [MD], v. 5, n. 2, p. 207-212, Mar. 2014.
- KIM, J. H. et al. Challenges in the practice of human milk nutrition in the neonatal intensive care unit. **Early Human Development**, Limerick [Amsterdam], v. 89, Suppl. 2, p. S35-S38, Oct. 2013.

- LAWRENCE, R. A.; LAWRENCE, R. M. Premature infants and breastfeeding. In: LAWRENCE, R. A.; LAWRENCE, R. M. **Breastfeeding: a guide for the medical profession**. 7. ed. The United States of America: Elsevier, 2011. 1128p. p. 515-549.
- LEE, J. et al. Oropharyngeal colostrum administration in extremely premature infants: an RCT. **Pediatrics**, Springfield, v. 135, n. 2, p. e357-e366, Feb. 2015.
- MADDUX, A. B.; DOUGLAS, I. S. Is the developmentally immature immune response in paediatric sepsis a recapitulation of immune tolerance? **Immunology**, Oxford, v. 145, n. 1, p. 1-10, May 2015.
- MANZONI, P. et al. Lactoferrin and prevention of late-onset sepsis in the pre-term neonates. **Early Human Development**, Limerick [Amsterdam], v. 86, Suppl. 1, p. S59-S61, Jul. 2010.
- MEIER, P. P. et al. Improving the use of human milk during and after the NICU stay. **Clinics in Perinatology**, Philadelphia, v. 37, n. 1, p. 217-245, Mar. 2010.
- MONTGOMERY, D. P. et al. Oropharyngeal administration of colostrum to very low birth weight infants: results of a feasibility trial. **Neonatal Intensive Care**, Los Angeles, v. 23, n. 1, p. 27-29, Jan.-Feb. 2010.
- NEU, J. Preterm infant nutrition, gut bacteria, and necrotizing enterocolitis. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, London, v. 18, n. 3, p. 285-288, May 2015.
- PAMMI, M.; ABRAMS, S. A. Oral lactoferrin for the prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, n. 2, p. CD007137, Feb. 2015.
- PATEL, A. B.; SHAIKH, S. Efficacy of breast milk gastric lavage in preterm neonates. **Indian Pediatrics**, New Delhi, v. 44, n. 3, p. 199-203, Mar. 2007.
- PATEL, R. M.; DENNING, P.W. Intestinal microbiota and its relationship with necrotizing enterocolitis. **Pediatric Research**, Basel, v. 78, n. 3, p. 232-238, Sept. 2015.
- PEILA, C. et al. The effect of holder pasteurization on nutrients and biologically-active components in donor human milk: a review. **Nutrients**, Basel, v. 8, n. 8, p. 1-19, Aug. 2016.
- RANGEL, U. V. et al. Variables associated with peripherally inserted central catheter related infection in high risk newborn infants. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, São Paulo, v. 22, n. 5, p. 842-847, Oct. 2014.
- REIS, Z. S. N. et al. Associação entre risco gestacional e tipo de parto com as repercussões maternas e neonatais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 2, p. 65-71, Feb. 2014.
- RODRIGUEZ, N. A. et al. A pilot study to determine the safety and feasibility of oropharyngeal administration of own mother's colostrum to extremely low-birth-weight infants. **Advances in Neonatal Care**, Philadelphia, v. 10, n. 4, p. 206-212, Aug. 2010.
- RODRIGUEZ, N. A. et al. A randomized controlled trial of the oropharyngeal administration of mother's colostrum to extremely low birth weight infants in the first days of life. **Neonatal Intensive Care**, Los Angeles, v. 24, n. 4, p. 31-35, July-Aug. 2011.

- RODRIGUEZ, N. A. et al. Oropharyngeal administration of colostrum to extremely low birth weight infants: theoretical perspectives. **Journal of Perinatology**, Philadelphia, v. 29, n. 1, p. 1-7, Jan. 2009.
- RODRIGUEZ, N. A. et al. Oropharyngeal administration of mother's colostrum, health outcomes of premature infants: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, London, v. 16, p. 453, Oct. 2015.
- RONAYNE DE FERRER, P. A. et al. Lactoferrin levels in term and preterm milk. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 19, n. 3, p. 370-373, Jun. 2000.
- SANKAR, M. J. et al. Sepsis in the newborn. **Indian Journal of Pediatrics**, New Delhi, v. 75, n. 3, p. 261-266, Mar. 2008.
- SANTOS, R. P.; TRISTRAM, D. A practical guide to the diagnosis, treatment, and prevention of neonatal infections. **Pediatric Clinics of North America**, Philadelphia, v. 62, n. 2, p. 491-508, Apr. 2015.
- SCCM Consensus Committee. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. **Critical Care Medicine**, Philadelphia, v. 20, n. 6, p. 864-874, Jun. 1992.
- SEIGEL, J. K. et al. Early administration of oropharyngeal colostrum to extremely low birth weight infants. **Breastfeeding Medicine**, New Rochelle, v. 8, n. 6, p. 491-495, Dec. 2013.
- SHARMA, R. et al. Neonatal gut injury and infection rate: impact of surgical debridement on outcome. **Pediatric Surgery International**, Berlin, v. 21, n. 12, p. 977-982, Dec. 2005.
- SHERMAN, M. P. New concepts of microbial translocation in the neonatal intestine: mechanisms and prevention. **Clinics in Perinatology**, Philadelphia, v. 37, n. 3, p. 565-579, Sept. 2010.
- SILVEIRA, R. C.; PROCIANOY. Uma revisão atual sobre sepse neonatal. **Boletim Científico de Pediatria**, Porto Alegre, v. 1, n. 1, p. 29-35, 2012.
- SOUZA, J. P. et al. Caesarean section without medical indications is associated with an increased risk of adverse short-term maternal outcomes: the 2004-2008 WHO Global Survey on Maternal and Perinatal Health. **BioMed Central Medicine**, London, n. 8, p. 71, Nov. 2010.
- STOLL, B. J. et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. **Pediatrics**, Springfield, v. 127, n. 5, p. 817-826, May 2011.
- SUNDEKILDE, U. K. et al. The effect of gestational and lactational age on the human milk metabolome. **Nutrients**, Basel, v. 8, n. 5, p. 1-15, May 2016.
- TARNOW-MORDI, W.; ISAACS, D.; DUTTA, S. Adjunctive immunologic interventions in neonatal sepsis. **Clinics in Perinatology**, Philadelphia, v. 37, n. 2, p. 481-499, Jun. 2010.
- THIBEAU, S.; BOUDREAUX, C. Exploring the use of mothers' own milk as oral care for mechanically ventilated very low-birth-weight preterm infants. **Advances in Neonatal Care**, Philadelphia, v. 13, n. 3, p. 190-197, Jun. 2013.

THOMAS, D. W. et al. Probiotics and prebiotics in pediatrics. **Pediatrics**, Springfield, v. 126, n. 6, p. 1217-1231, Dec. 2010.

TURFKRUYER, M.; VERHASSELT, V. Breast milk and its impact on maturation of the neonatal immune system. **Current Opinion in Infectious Diseases**, London, v. 28, n. 3, p. 199-206, Jun. 2015.

UNDERWOOD, M. A. Human milk for the premature infant. **Pediatric Clinics of North America**, Philadelphia, v. 60, n. 1, p. 189-207, Feb. 2013.

VIEIRA, A. A. et al. Analysis of the influence of pasteurization, freezing/thawing, and offer processes on human milk's macronutrient concentrations. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 87, n. 8, p. 577-580, Aug. 2011.

ZAIDI, A. K. et al. Pathogens associated with sepsis in newborns and young infants in developing countries. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Baltimore, v. 28, Suppl. 1, p. S10-S18, Jan. 2009.

ZEA-VERA, A.; OCHOA, T. J. Challenges in the diagnosis and management of neonatal sepsis. **Journal of Tropical Pediatrics**, London, v. 61, n. 1, p. 1-13, Feb. 2015.



---

## APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Seu filho (a) está sendo convidado para participar da pesquisa **“Administração Orofaríngea de Colostro e a Prevenção de Infecções em Recém-Nascidos Pré-Termo de Muito Baixo Peso ao Nascer”**, que será realizada no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, sob a responsabilidade dos pesquisadores Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Vânia Olivetti Steffen Abdallah e Dra. Daniela Marques de L. M. Ferreira, médicas do Serviço de Neonatologia desta instituição.

Já está bem estabelecido que a alimentação com leite materno protege os recém-nascidos prematuros contra infecções além de muitos outros benefícios. Entretanto, a imaturidade e as condições de saúde destes bebês logo após o nascimento impedem que o leite materno seja iniciado ainda nas primeiras horas de vida.

Nesta pesquisa nós estamos buscando comprovar se a administração do leite materno em pequena quantidade no cantinho da boca do bebê, nas primeiras 48 horas de vida, também poderia ter este efeito protetor contra infecções.

Quem está entrando em contato com você é um dos pesquisadores responsáveis ou membro da equipe para esclarecer dúvidas sobre a pesquisa e obter o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Com a participação de seu (sua) filho (a) na pesquisa ele (a) será sorteado para receber ou não o leite materno no cantinho da boca a partir das primeiras 48 horas de vida. Você precisará colaborar retirando o volume mínimo de 4,8 mL de leite neste período. Será colhido um pouquinho de urina em 3 momentos: nas primeiras 48 horas de vida, 12 a 24 horas após e 14 dias após.

Em nenhum momento seu (sua) filho (a) será identificado (a). Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a identidade de seu (sua) filho (a) será preservada.

Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa.

Não há riscos aumentados para seu (sua) filho (a) com a participação nesta pesquisa. Os riscos com a administração do leite materno no cantinho da boca são mínimos, especialmente porque será realizado por profissional médico ou de enfermagem habilitado e treinado para o cuidado com o bebê. O procedimento será imediatamente interrompido ao sinal de qualquer alteração clínica. Nenhum dos procedimentos realizados trará qualquer desconforto para o seu bebê.

Os benefícios serão a comprovação de que o leite materno se utilizado precocemente, mesmo antes do bebê poder se alimentar, protege o recém-nascido prematuro contra infecções, diminui a gravidade e o tempo de internação destes bebês.

Você é livre para interromper a participação de seu filho (a) a qualquer momento sem nenhum prejuízo.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com a senhora.

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa a senhora poderá entrar em contato com:

Pesquisadores: Daniela Marques de L. M. Ferreira ou Prof<sup>ta</sup> Dr<sup>a</sup> Vânia Olivetti Steffen Abdallah.

Av. Pará 1720 Bairro Umuarama - Hospital de Clínicas, Serviço de Neonatologia

Telefones: 32182112 / 32182454

CEP/UFU: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco J, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394531

Uberlândia, ..... de ..... de 20.....

---

Assinatura dos pesquisadores

Eu aceito que meu filho / minha filha participe do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecida.

---

Responsável pelo Participante da pesquisa

## APÊNDICE B – INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

Grupo de estudo: (    ) Colostro                      (    ) Placebo                      (    ) LHB

1. DADOS MATERNOS	
Idade	Estado Civil
Escolaridade	Paridade
Número de consultas de pré-natal	Tipo de parto
Intercorrências na gestação	Fatores de risco / infecção periparto

2. DADOS DO RECÉM-NASCIDO	
Prontuário	Sexo: ( ) M    ( ) F
Data e hora do nascimento	Peso de Nascimento
Apgar: 1'            5'	Idade gestacional
Classificação	Corticóide antenatal
<b>Características nutricionais</b>	
Idade de início da dieta enteral	Idade para alcançar 100 e 150 mL/Kg/dia de dieta enteral
Menor peso (g) e idade do menor peso	Peso com 36 semanas e na alta
<b>Administração orofaríngea de colostro</b>	
Idade de início	Intercorrências durante administração



<b>Fatores de risco para sepse tardia</b>	
Dias de nutrição parenteral	Dias cateter umbelical
Dias PICC	Dias outro acesso venoso central
Uso de bloqueadores H2	Uso de antibióticos
Uso de cefalosporina 3ª ou 4ª geração	Uso de corticoide pós natal
<b>Sepse tardia</b>	
Idade	
Hemocultura positiva	
ATB	
<b>Enterocolite necrosante</b>	
Idade	
Tempo de jejum	
ATB	
Tempo de internação	Idade cronológica e corrigida na alta
Diagnósticos na alta	

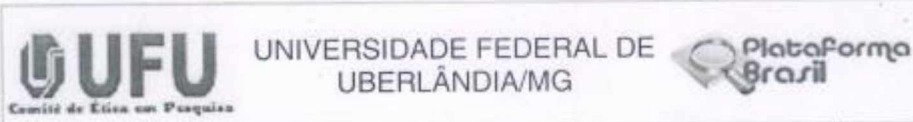
---

3. EXAMES LABORATORIAIS			
	Antes tratamento	do 24 horas após	14 dias após
IgA			
- Urina			
- Saliva			



**ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

 <b>UFU</b> <small>Comitê de Ética em Pesquisa</small>	<b>UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA/MG</b>	 <b>Plataforma Brasil</b>
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>		
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>		
<b>Título da Pesquisa:</b> Administração orofaríngea de colostro e prevenção de infecções em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer.		
<b>Pesquisador:</b> VÂNIA OLIVETTI STEFFEN ABDALLAH		
<b>Área Temática:</b>		
<b>Versão:</b> 3		
<b>CAAE:</b> 09199613.9.0000.5152		
<b>Instituição Proponente:</b> Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG		
<b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio		
<b>DADOS DO PARECER</b>		
<b>Número do Parecer:</b> 333.886		
<b>Data da Relatoria:</b> 19/07/2013		
<b>Apresentação do Projeto:</b>		
Segundo apresenta o protocolo:		
Estudos mais recentes sugerem que a administração orofaríngea de colostro da própria mãe pode servir como uma imunoterapia para o recém-nascido pré-termo de muito baixo peso ao nascer devido aos efeitos imunostimulatórios sistêmicos protegendo-o contra as infecções hospitalares.		
<b>Desfecho Primário:</b> Redução na incidência de infecção em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer com a administração orofaríngea de colostro.		
<b>Critério de Inclusão:</b> Serão incluídos na pesquisa RNPT com idade gestacional menor que 34 semanas e peso de nascimento menor a 1.500g nascidos no Serviço de Neonatologia do HC UFU no período de estudo.		
<b>Critério de Exclusão:</b> Serão excluídos os RN com malformações congênitas, com história materna de uso recente (72h antes da internação para o parto) de drogas e infecção pelo vírus HIV e HTLV.		
<b>Objetivo da Pesquisa:</b>		
<b>Hipótese:</b>		
O leite humano administrado na orofaringe de recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao		
<b>Endereço:</b> Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica <b>Bairro:</b> Santa Mônica <b>CEP:</b> 38.408-144 <b>UF:</b> MG <b>Município:</b> UBERLÂNDIA <b>Telefone:</b> (34)3239-4131 <b>Fax:</b> (34)3239-4335 <b>E-mail:</b> cep@propp.ufu.br		
<small>Página 01 de 08</small>		



Continuação do Parecer: 333.888

nascer promove um efeito imuno-estimulatório e determina a redução da incidência de sepse e enterocolite necrotizante.

**Objetivo Primário:**

Avaliar o efeito imuno-estimulatório da administração orofaríngea de colostro na incidência de sepse e enterocolite necrotizante em recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer do Serviço de Neonatologia do HCU-UFU.

**Objetivo Secundário:**

- 1- Comparar a concentração de lactoferrina e IgAs na saliva, urina e sangue entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de leite humano da própria mãe;
- 2- Comparar o tempo de internação entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de leite humano da própria mãe;
- 3- Comparar a morbidade, em especial a incidência de sepse tardia e enterocolite necrotizante, entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de leite humano da própria mãe e
- 4- Comparar a mortalidade entre os RNPT de muito baixo peso submetidos e não submetidos à administração orofaríngea de leite humano da própria mãe.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Segundo os pesquisadores:

Os riscos aos indivíduos participantes são mínimos como agitação psicomotora e queda da saturação de oxigênio pelo manuseio, pois o volume administrado na orofaringe é um volume pequeno incapaz de causar danos. A equipe executora compromete-se com o sigilo absoluto da identidade dos sujeitos da pesquisa. Os benefícios do estudo estão na possibilidade de demonstrar o efeito da administração orofaríngea de colostro na redução da incidência de sepse e enterocolite necrotizante. Estas patologias são altamente prevalentes neste grupo de recém-nascidos determinando um aumento da morbimortalidade e do tempo de internação.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa será realizada após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia-MG. O estudo será realizado no Serviço de Neonatologia e Banco de Leite do HCU-UFU e no Laboratório de Imunoparasitologia da UFU. Serão estudados os importantes

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.408-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 333.886

avanços em neonatologia nas últimas décadas resultaram em uma redução significativa na mortalidade de recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer, ou seja, aqueles com peso de nascimento inferior a 1500 gramas. Entretanto, a sobrevivência destas crianças está associada a um aumento na morbidade a curto e longo prazo, incluindo, infecções hospitalares, enterocolite necrotizante, hemorragia intraventricular, leucomalácia periventricular e comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor caracterizado por déficits cognitivos e motores, déficits visuais e auditivos e paralisia cerebral (RODRIGUEZ et al., 2010). As infecções constituem as principais causas de morbi-mortalidade em recém nascidos pré-termo (RNPT). A sepse tardia, que se manifesta após 48 horas da admissão hospitalar, é particularmente importante devido à alta prevalência e associação com baixo ganho ponderal, aumento do tempo de internação hospitalar, seqüelas neurológicas e um custo significativo para a família, os serviços de saúde e a sociedade. O risco de adquirir uma infecção hospitalar é inversamente proporcional ao peso e idade gestacional ao nascimento e está diretamente relacionado à gravidade do recém-nascido ao nascimento. O trato digestivo é o principal sítio de colonização e translocação sistêmica dos patógenos. Estudos anteriores demonstraram uma prevalência de aproximadamente 20% de sepse tardia e de 5 a 10% de enterocolite necrozante em RNPT de muito baixo peso internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) Neonatais. O diagnóstico destas infecções pode ser retardado nestas crianças devido aos sintomas clínicos inespecíficos e à baixa sensibilidade dos testes diagnósticos. Além disso, mesmo que o diagnóstico seja precoce e o tratamento adequado, o tempo de internação, os custos e o comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor continuam elevados (SANKAR et al., 2008; SHERMAN, 2010). Dentro deste contexto, várias estratégias têm sido estudadas para reduzir a incidência de sepse tardia. O uso do leite humano da própria mãe na alimentação de RNPT de muito baixo peso ao nascer está associado a uma diminuição no risco de adquirir infecção hospitalar e este efeito protetor é atribuído a uma multiplicidade de componentes imunológicos presentes no leite humano. Além disso, estudos recentes sugerem uma relação inversa entre as concentrações dos componentes imunes protetores no colostro e a duração da gestação sugerindo que eles têm um papel biológico importante nos recém-nascidos de muito baixo peso nos primeiros dias de vida (FERRER et al., 2000; ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011; LAWRENCE, LAWRENCE, 2011). A imunoglobulina A secretora (IgAs), presente no leite humano, é um anticorpo que impede a adesão de patógenos à mucosa do trato respiratório e intestinal, mantém a integridade da mucosa intestinal e determina uma barreira de proteção específica contra os patógenos que causam infecções respiratórias e gastrointestinais. A interleucina 6 (IL-6), presente no leite humano, estimula o crescimento e a diferenciação do

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.408-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 333.886

linfócito B em plasmócito secretor de IgA (ARAÚJO et al., 2005; CASTELLOTE et al., 2011). A lactoferrina, outro constituinte do leite humano, é uma proteína glicosilada que se liga ao ferro apresentando propriedades bactericidas, bacteriostáticas, antivirais, anti-inflamatórias, e imunomodulatórias potentes. Assim como a IgAs, a lactoferrina encontra-se em concentrações elevadas no colostro, é resistente às enzimas digestivas e excretada em altos níveis na urina e nas fezes de recém-nascidos alimentados com leite humano. O aparecimento de lactoferrina na urina demonstra absorção sistêmica podendo ser um indicio de sua influência na resposta do recém-nascido às infecções. A lactoferrina também é capaz de proteger contra infecções através da inibição da adesão das bactérias patogênicas às células da mucosa orofaríngea. Quando deglutida pode determinar uma barreira protetora semelhante no trato gastrointestinal (FERRER et al., 2000; MANZONI et al., 2010; TARNOW-MORDI, ISAACS, DUTTA, 2010; COCHRANE DATABASE, 2011). Entretanto, a instabilidade clínica característica destes recém-nascidos nos primeiros dias de vida, em especial, dos recém-nascidos de extremo baixo peso (1000 gramas) resulta no retardo do início da alimentação enteral. Pensando nos benefícios do uso do leite humano da própria mãe e na dificuldade para o início precoce (48 horas de vida) da dieta enteral, métodos alternativos para administração do colostro têm sido investigados, tais como a administração orofaríngea de colostro, com indícios de que seria seguro e viável para realização em recém-nascidos de muito baixo peso internados na UTI Neonatal, nas primeiras horas de vida (RODRIGUEZ et al., 2009; RODRIGUEZ et al., 2010). A administração orofaríngea de colostro corresponde à administração de pequenas quantidades de colostro sejam absorvidos pela mucosa orofaríngea. Além disso, as citocinas presentes no colostro podem interagir com as células linfóides associadas à mucosa e os oligossacarídeos do leite humano podem prover uma barreira protetora local devido à sua habilidade em inibir a adesão de patógenos aos receptores de superfície das células epiteliais (RODRIGUES et al., 2009; RODRIGUEZ et al., 2010). Estudo realizado por Rodriguez et al. (2009) sugere que a administração orofaríngea de colostro da própria mãe pode servir como uma imunoterapia para o recém nascido de extremo baixo peso devido aos efeitos imunoestimulatórios sistêmicos protegendo-o contra as infecções hospitalares.

Tamanho da Amostra no Brasil: 165.

Será um estudo clínico prospectivo, randomizado e cego. Os RN serão divididos, de forma randomizada e cega, inicialmente, em dois grupos para a administração orofaríngea ou não de leite humano da própria mãe: Grupo I: RNPT submetidos à administração orofaríngea de leite

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.408-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 333.886

humano da própria mãe. Grupo II: RNPT submetidos à administração orofaríngea de água destilada, considerada uma substância inerte. Os RNPT que forem sorteados para o Grupo I e que, por qualquer motivo, não for possível obter um volume de leite da própria mãe suficiente constituirão um terceiro grupo denominado Grupo III que receberá administração orofaríngea de leite humano de banco. Nas primeiras 24 horas após o nascimento, a pesquisadora abordará cada mãe do RNPT incluído no estudo para explicar todos os detalhes incluindo a randomização dos grupos estudados, o protocolo de ordenha e a administração orofaríngea do leite humano. As mães que consentirem com a participação de seus filhos no estudo assinarão o TCLE. As mães serão encaminhadas ao BLH HCU-UFU para retirada do leite com técnica asséptica. O volume total de leite humano da própria mãe necessário para a administração orofaríngea será de 4,8 mL. Quando houver disponibilidade de pelo menos 2,4 mL, sob técnica asséptica, este volume será fracionado em 12 seringas estéreis (Seringa Descartável 100UI) de 0,2 mL cada, identificadas com o nome da mãe. As seringas de leite humano da própria mãe serão encaminhadas ao Serviço de Neonatologia, sob refrigeração em caixas térmicas, para iniciar a administração orofaríngea nos RNPT do Grupo I. Para as crianças do grupo II serão encaminhadas ao Serviço de Neonatologia seringas (12) contendo o mesmo volume de água destilada (0,2mL), sob refrigeração em caixas térmicas para iniciar a administração orofaríngea. As crianças do Grupo I cujas mães não ordenharem volume de leite suficiente passarão a constituir o Grupo III e para elas serão encaminhadas ao Serviço de Neonatologia seringas (12) contendo o mesmo volume de leite humano de banco (0,2mL), sob refrigeração em caixas térmicas para iniciar a administração orofaríngea. A administração orofaríngea de leite humano ou água destilada deverá iniciar nas primeiras 48 horas de vida. O colostro ou água destilada serão administrados pela técnica de enfermagem responsável pelo RNPT de acordo com a prescrição médica no volume de 0,2 mL a cada 2 horas por um período de 48 horas (12 seringas). Durante o procedimento, o RNPT estará sob monitorização contínua da saturação de oxigênio e da frequência cardíaca através de oxímetro de pulso conforme rotina do serviço para os RN internados na UTI Neonatal. A administração orofaríngea será interrompida imediatamente se o RNPT apresentar sinais de agitação, queda da saturação de oxigênio abaixo de 85% ou alteração significativa da frequência cardíaca. O treinamento de toda a equipe de enfermagem para a administração orofaríngea será realizado pela aluna pesquisadora que é médica pediatra neonatologista. As amostras de saliva e urina, nos três grupos, serão colhidas pela aluna pesquisadora no 2o dia de vida antes da administração orofaríngea, após 12 a 24 horas e após 14 dias do término da administração orofaríngea. As amostras de sangue serão obtidas do resíduo dos exames coletados de rotina na UTI Neonatal e

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.408-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: oep@propp.ufu.br



Continuação do Parecer: 333.886

não representarão, portanto, uma nova coleta de sangue. As amostras serão encaminhadas ao Laboratório de Imunoparasitologia da Universidade Federal de Uberlândia para dosagem de IgA secretora e lactoferrina. Metodologia de Análise de Dados: Os dados coletados serão digitados em planilhas do software Excel. Os estatísticos pesquisadores acompanharão a elaboração inicial das planilhas e o registro inicial de dados e em conjunto com os demais pesquisadores definirão os testes estatísticos mais apropriados para análise dos resultados. Anexa o instrumento da coleta de dados e TCLE para o responsável pelo RN.

O Financiamento é próprio.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Apresenta os seguintes termos: Declaração da instituição co-participante, Declaração do responsável técnico do laboratório de imunoparasitologia, Termo de compromisso da equipe executora, Declaração do responsável do departamento de ginecologia e obstetrícia da UFU, Declaração do diretor clínico do hospital das clínicas da UFU, Declaração do responsável do departamento de pediatria da UFU, conforme as normas da Resolução 196/96.

**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Pendências apontadas no parecer 329.189 foram atendidas.

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

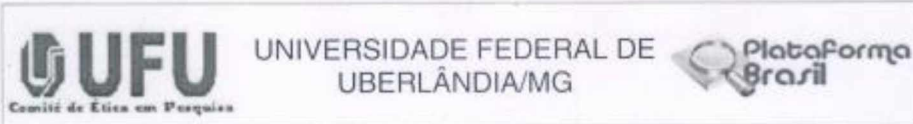
**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.408-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br



Continuação do Parecer: 333.886

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: fevereiro de 2014.

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: fevereiro de 2015.

Data para entrega de Relatório Final ao CEP/UFU: fevereiro de 2016.

**OBS.: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.**

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Orientações ao pesquisador :

- ↳ O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- ↳ O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- ↳ O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, junto com seu posicionamento.
- ↳ Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.406-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 333.866

projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res.251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma.

UBERLÂNDIA, 15 de Julho de 2013

---

Assinador por:  
Sandra Terezinha de Farias Furtado  
(Coordenador)

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38.406-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br