



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**ENTEROLITE NECROSANTE: FATORES DE RISCO E ASSOCIAÇÃO
COM A MORTALIDADE EM 17 UNIDADES BRASILEIRAS
DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL EM CINCO ANOS**

Renata Bastos Lopes

**Rio de Janeiro
Maio de 2016**



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**ENTEROLITE NECROSANTE: FATORES DE RISCO E ASSOCIAÇÃO
COM A MORTALIDADE EM 17 UNIDADES BRASILEIRAS
DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL EM CINCO ANOS**

Projeto, Dissertação
apresentada à Pós-graduação
em Saúde da Criança e da
Mulher, como parte dos
requisitos para obtenção do
título de Mestre em Saúde da
Criança e da Mulher.

Renata Bastos Lopes

Orientadora: Maria Elisabeth Lopes Moreira

Coorientador: Saint Clair Gomes Junior

**Rio de Janeiro
Maio de 2016**

FICHA CATALOGRÁFICA NA FONTE
INSTITUTO DE COMUNICAÇÃO E INFORMAÇÃO
CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA EM SAÚDE
BIBLIOTECA DA SAÚDE DA MULHER E DA CRIANÇA

L864

Lopes, Renata Bastos.

Enterocolite Necrosante: fatores de risco e associação com a mortalidade em 17 unidades brasileiras de Terapia Intensiva Neonatal em cinco anos / Renata Bastos Lopes. - Rio de Janeiro, 2016.
57 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro, RJ, 2016.

Orientadora: Maria Elisabeth Lopes Moreira
Co-orientador: Saint Clair Gomes Junior

Bibliografia: f. 49-57

1. Enterocolite Necrosante. 2. Prematuro. 3. Recém-Nascido de muito Baixo Peso. 4. Morbidade. I. Título.

CDD 22.ed. 618.92

Agradecimentos

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades e me mostrar os caminho nas horas incertas.

Aos meus orientadores Dra Maria Elisabeth Lopes Moreira e Saint Clair Gomes Junior por me mostrarem o caminho da ciência e por serem exemplos de profissionais.

A banca de exame Dra. Ana Maria Magalhães e Dr. Alan Vieira pela ajuda e contribuições.

Aos professores da Pós-Graduação pelos ensinamentos e orientações ao longo do curso.

Aos colegas do curso por me receberem bem.

A secretaria acadêmica pela atenção, apoio e profissionalismo.

A toda minha família e amigos por estarem sempre ao meu lado.

A minha filha Maria Luíza que é a maior alegria da minha vida.

Ao meu marido Tércio que esteve sempre ao meu lado e me apoiou nos momentos difíceis.

Ao meu pai José Maria que é o meu exemplo, meu mestre e simplesmente o maior estímulo para continuar na vida acadêmica.

Lista de abreviações

BDP- Broncodisplasia Pulmonar

ECN - Enterocolite Necrosante

FAP- Fator Ativador de Plaquetas

FNT- Fator de Necrose Tumoral

PCA- Persistência do Canal Arterial

RN- Recém-Nascido

RNPT- Recém-Nascido Prematuro

ROP- Retinopatia da Prematuridade

UTI- Unidade de Terapia Intensiva

UTIN- Unidade de Terapia Intensiva Neonatal

Capítulo 1	7
1.1 Introdução	7
1.2 Justificativa	8
1.3 Referencial teórico	10
1.3.1 <u>Epidemiologia</u>	10
1.3.2 <u>Fatores de risco</u>	11
1.3.2.1 <u>Fatores de risco antenatais</u>	11
1.3.2.2 <u>Fatores de risco pós-natais</u>	12
1.3.3 <u>Fisiopatologia</u>	15
1.3.3.1 <u>Predisposição genética</u>	16
1.3.3.2 <u>Imaturidade intestinal</u>	16
1.3.3.3 <u>Colonização intestinal versus microbiota intestinal</u>	17
1.3.3.4 <u>Alteração do tônus vascular</u>	18
1.3.3.5 <u>Mediadores inflamatórios</u>	19
1.3.3.6 <u>Probióticos</u>	19
1.3.4 <u>Manifestações clínicas</u>	20
1.3.4.1 <u>Apresentação clínica</u>	20
1.3.4.2 <u>Achados laboratoriais</u>	21
1.3.4.3 <u>Achados radiográficos</u>	22
1.3.5 <u>Diagnóstico diferencial</u>	23
1.3.6 <u>Tratamento</u>	23
1.3.6.1 <u>Clínico</u>	23
1.3.6.2 <u>Cirúrgico</u>	24

1.3.7	<u>Complicações</u>	26
1.4	Objetivo	27
1.4.1	<u>Objetivo geral</u>	27
1.4.2	<u>Objetivos específicos</u>	27
1.5	Material e Métodos	27
1.5.1	<u>Desenho do estudo</u>	27
1.5.2	<u>Cenário</u>	27
1.5.3	<u>Fonte de dados</u>	27
1.5.4	<u>População</u>	28
1.5.5	<u>Variáveis</u>	28
1.5.6	<u>Análise dos dados</u>	29
	Capítulo 2: Artigo	31
	Capítulo 3: Considerações finais	47
	Referências Bibliográficas	49

Resumo

Objetivos: O objetivo deste estudo é analisar as características demográficas e os fatores de risco de ECN em uma população de recém-nascidos brasileiros e sua associação com mortalidade.

Material e Métodos: Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo. A população incluiu todos os recém-nascidos admitidos em 17 unidades, com peso de nascimento entre 500g e 1500g, e idade gestacional entre 24 e 36 semanas e 6 dias, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013.

Resultados: Um total de 8.307 recém-nascidos foi incluído na nossa análise, dentre os quais 489 (5,9%) apresentaram ECN. Dos 489 pacientes com ECN, 315 (64,5%) foram tratados clinicamente e 174 (35,5%) foram submetidos à cirurgia. Pacientes com ECN apresentaram menor peso, menor idade gestacional, maior frequência de intubação na sala de parto e menor Apgar de primeiro e quinto minutos. ECN foi um importante determinante na mortalidade. Os fatores de risco que se relacionaram à doença, ajustados através da análise multivariada, foram Apgar de primeiro minuto, sepse tardia e peso de nascimento.

Conclusão: Houve uma grande variabilidade na incidência de ECN nas unidades (2,7% a 12,9%). Os principais fatores de risco para a doença nessa população foram peso de nascimento, Apgar de primeiro minuto e sepse tardia, como já descrito em estudos anteriores.

Palavras-chave: Enterocoliteneccrosante, prematuridade, muito baixo peso, morbidade.

Abstract

Objective: The objective of this study was to describe the incidence, the risk factors and mortality for NEC in premature neonates admitted for Brazilian intensive care unit.

Study design: A retrospective cohort study performed in 17 Brazilian neonatal intensive care units. The population included all newborns with birth weight from 500g to 1.500g and gestational age from 24 to 36 weeks and 6 days admitted in these units from January 2009 to December 2013.

Results: A total of 8.307 patients were included in the analysis of which 489 (5,9%) met the criteria for NEC. Of the 489 patients with NEC, 315 (64,5%) were treated medically and 174 (35,5%) had abdominal surgery. Patients with NEC had lower birth weight, lower gestational age, were more frequently intubated at delivery room 228 (56%) x 2.602 (42%), and had lower Apgar's scores. The mortality for babies with NEC was higher compared with those without NEC 40% x 20% ($p < 0,001$). The risk factors adjusted in a multivariate model for NEC were first minute Apgar score, late onset sepsis and birth weight.

Conclusion: There was a large variability on incidence of NEC in the different units. The risk factors adjusted in a multivariate model for NEC were first minute Apgar score, late onset sepsis and birth weight as described previously in other studies.

Keywords: Necrotizing enterocolitis, prematurity, very low birth weight, morbidity.

Capítulo 1

1.1. Introdução

A prematuridade é um dos maiores desafios na assistência perinatal¹. Nos últimos anos, novas terapias, como o uso do surfactante para tratamento de doença de membrana hialina e do corticoide antenatal para aceleração do amadurecimento pulmonar, tiveram impacto significativo na mortalidade dos prematuros². Entretanto, sabemos que, apesar da redução da mortalidade, algumas morbidades relacionadas à prematuridade não sofreram redução significativa. A broncodisplasia pulmonar (BDP), a retinopatia da prematuridade (ROP) e a enterocolitene necrosante (ECN) continuam sendo grandes questões na neonatologia atual³.

A enterocolitene necrosante a doença gastrointestinal mais comumente adquirida no período neonatal e ocorre predominantemente em recém-nascidos prematuros. Muitas vezes, as suas consequências, como necrose intestinal, sepsis e morte, não podem ser evitadas mesmo com a detecção precoce e o tratamento agressivo da doença^{4,5}. A prevalência de ECN varia entre diferentes UTI neonatais, sendo reportada entre 3% e 11% nos prematuros de muito baixo peso ao nascer^{6,7}. Sabe-se que existe uma relação inversamente proporcional bem definida entre incidência de ECN e idade gestacional ao nascimento, sendo os prematuros de muito baixo peso (< 1.500g) e extremo baixo peso (< 1.000g) os de maior risco para a ocorrência da doença^{2,8,9}. A mortalidade relacionada à ECN pode variar de 20% a 50%, porém, nos casos graves, pode chegar a 100%¹⁰⁻¹².

A fisiopatologia da enterocoliteneocrosante ainda não é completamente esclarecida. No entanto, acredita-se ser uma doença com fisiopatologia multifatorial. Fatores como predisposição genética, imaturidade intestinal, desequilíbrio do tônus vascular, colonização anormal intestinal e fatores imunológicos locais da parede intestinal contribuem para o desenvolvimento da doença¹³. Estudos no nível molecular sugerem que a resposta inflamatória individual exerce um importante papel na patogênese da doença^{14,15}. Além da prematuridade, outros fatores de risco estão envolvidos na fisiopatologia da ECN, como asfixia, infecção bacteriana, isquemia mesentérica e práticas alimentares⁴.

1.2. Justificativa

A prematuridade é uma das mais importantes causas de morte e consequente perda de capital humano no mundo atual. As complicações relacionadas ao parto prematuro representam a principal causa direta de morte nos recém-nascidos, sendo responsáveis por 35% das 3.1 milhões de mortes neonatais que acontecem a cada ano. Nos menores de cinco anos, a prematuridade representa, ainda, a segunda maior causa de morte, perdendo apenas para pneumonia¹.

Anualmente, estima-se que 15 milhões dos 135 milhões de nascimentos mundiais são prematuros. Uma porção significativa destes necessita de cuidados neonatais e pediátricos de maior complexidade devido a sequelas, como surdez, cegueira, paralisia cerebral e *déficit* cognitivo¹.

No Brasil, nascem cerca de 3 milhões de bebês a cada ano. Dados do Datasus mostram a prevalência de prematuridade de 10%, resultando em cerca de 300 mil prematuros¹⁶. Sabe-se que os recém-nascidos com peso inferior a 1.500g representam 1,5%, o que significa aproximadamente 45.000 casos por ano. Sendo assim, considerando-se a taxa de enterocolite em torno de 5% nos menores de 1.500g, estima-se que internam-se no Brasil cerca de 2.250 casos de ECN anualmente.

A Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais reúne dados das internações de recém-nascidos provenientes de 20 UTIN de diversas regiões do país, de forma prospectiva, formando um banco de dados completo e com informações disponíveis sobre a internação, a evolução clínica e o desfecho de recém-nascidos com peso inferior a 1.500 gramas. Anualmente, cerca de 1.200 recém-nascidos têm seus dados registrados nesta base, que se constitui num acervo importante de estudo e análise¹⁷.

A situação da ECN no mundo é muito variável. Sabe-se que, em países desenvolvidos, como Estados Unidos e Canadá, a incidência varia de 3% a 12%. Essa variação de incidência em diferentes partes do mundo relaciona-se a diferentes práticas utilizadas no cuidado com o prematuro.

Dados de 2013 da Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais mostram que a incidência de ECN variou de 2,7% a 12% nessas UTIS. Sabemos que a ECN é uma doença grave com alto impacto na mortalidade e morbidade neonatais. Assim, estudar essa doença vai permitir identificar as características demográficas e os fatores de risco relacionados a ela nesta população e sua associação com mortalidade.

1.3 Referencial teórico

1.3.1 Epidemiologia

A incidência de enterocolite é inversamente proporcional à idade gestacional; a grande maioria dos casos acomete recém-nascidos prematuros. A incidência é claramente relacionada à prematuridade com queda importante em recém-nascidos com idade gestacional maior que 35-36 semanas e peso de nascimento superior a 1.500g¹¹. Um estudo da rede canadense de pesquisa neonatal demonstrou uma incidência de 5,1% em recém-nascidos menores de 33 semanas de idade gestacional, com significativa variação entre as unidades participantes (1,3% a 12,9%)⁶. Nos Estados Unidos, um estudo populacional mostrou uma incidência de 2,6% em menores de 33 semanas⁷. Em outro estudo realizado na Malásia, a incidência média de ECN foi de 6,2% em pacientes com peso inferior a 1.500g, com grande variação entre as unidades participantes (0-13%)¹⁸. Recém-nascidos a termo que desenvolvem ECN geralmente apresentam fatores de risco relacionados à hipoperfusão mesentérica, como cardiopatia congênita, sepsis, hipotensão arterial e policitemia¹⁹.

A mortalidade relacionada à ECN é variável, podendo chegar a 50%. Observa-se uma maior mortalidade nos casos cirúrgicos¹¹. Existe também, uma forma da doença com características específicas, chamada enterocolite fulminante, com curso rápido e fatal, acometendo grande parte do intestino, e está presente em aproximadamente 7% dos casos de ECN. Pacientes com ECN fulminante tendem a ser mais prematuros e ter menor peso de nascimento em relação aos pacientes com ECN não fulminante²⁰.

1.3.2 Fatores de risco

1.3.2.1 Fatores de risco antenatais

O principal fator de risco para ocorrência de ECN é a prematuridade, uma vez que aproximadamente 90% dos casos acontecem em recém-nascidos com menos de 35 semanas. Bebês nascidos após 35 semanas que apresentam ECN possuem maior chance de terem tido asfixia perinatal, sepsis, má-formações congênitas, levando à isquemia mesentérica. Embora a ECN afete predominantemente recém-nascidos prematuros, aproximadamente 10% dos casos ocorrem em bebês com mais de 36 semanas.

Acredita-se que a enterocolite seja uma doença multifatorial, e um dos fatores implicados seria a lesão de reperfusão intestinal consequente a um insulto isquêmico desencadeador de um processo inflamatório local, levando à lesão da mucosa e da vasculatura intestinal em áreas onde o intestino é menos perfundido. Qualquer situação materna que prejudique a circulação placentária e fetal pode aumentar o risco para ECN²¹.

O uso materno de drogas ilícitas, como a cocaína, pode acarretar vasoconstrição placentária, contração uterina e restrição do crescimento intrauterino. Além disso, a cocaína ultrapassa a placenta, causando efeitos simpaticomiméticos diretamente na circulação fetal²².

Downard *Cet al.* (2012) demonstraram que a exposição fetal à nicotina é um fator de risco significativo para ocorrência de ECN. A substância prejudica o desenvolvimento vascular placentário inicial, podendo ocasionar insuficiência placentária e restrição do crescimento intrauterino²³.

Algumas drogas lícitas utilizadas para tocolise, como por exemplo, a indometacina e um inibidor da prostaglandina (sulindac[®]) foram descritas associadas ao aumento do risco para ECN^{24,25}.

A doença hipertensiva materna pode causar uma doença placentária, no entanto, a relação com a ECN ainda não é bem clara. Bashiriet *al.* (2003) consideram que a doença hipertensiva da gestação é um fator independente de risco para o desenvolvimento de ECN em recém-nascidos cujo peso é inferior de 1.500g²⁶. Já Cetinkaya M.*et al.* (2012) descreveram uma associação de ECN com pré-eclâmpsia²⁷. Vieira *et al.* (2013) em um estudo brasileiro, demonstraram que a presença de pré-eclâmpsia aumentou o risco para ECN em 2,84 vezes em RN menores de 1500g²⁸.

Acorioamnionite pode ocasionar problemas relacionados à circulação placentária e à inflamação fetal, sendo um potencial fator de risco para ECN. García-Muñoz *et al.* (2014) mostraram que recém-nascidos expostos a corioamnionite clínica apresentaram maior risco para ECN (11,2% x 7,7%) após ajuste em modelo multivariado²⁹. Um estudo recente observou que a presença de corioamnionite histopatológica com evidência de acometimento fetal aumentou o risco para ECN³⁰. Outra pesquisa que examinou pacientes e placentas com evidência de corioamnionite clínica mostrou um aumento da incidência de ECN de 2% para 8%³¹.

1.3.2.2 Fatores de risco pós-natais

A asfixia perinatal é conhecida como um fator de risco para ocorrência de ECN há muito tempo, como descreveram Gane *et al.* (2014)³². Manogura *et*

al. (2008) mostraram que Apgar de quinto minuto menor que 7 e *déficit* de base mais alto foram relacionados à ocorrência de ECN³³. Estudos anatomopatológicos de intestino acometido pela doença evidenciam frequentemente necrose de coagulação e outras evidências de lesão isquêmica, o que suporta essa associação³⁴. *Yonget al.* (2016), em estudo recente utilizando técnicas de imunohistoquímica, demonstraram que a isquemia tem um papel primário na patogênese da ECN³⁵.

A persistência do canal arterial é uma patologia frequente em prematuros, podendo estar presente em até 80% dos recém-nascidos com menos de 1.000g³⁶. Um canal arterial hemodinamicamente significativo com roubo de fluxo diastólico pode gerar hipoperfusão esplâncnica crônica e predispor a ocorrência de ECN³⁷. Alguns estudos epidemiológicos relataram a associação entre a persistência do canal arterial e o uso da indometacina com a ocorrência de ECN em recém-nascidos prematuros, embora esse fato não tenha sido confirmado em ensaios clínicos randomizados controlados³⁸⁻⁴⁰. *Louis et al.* (2016), em estudo recente, não demonstraram associação do uso de indometacina para fechamento do canal arterial com a ECN⁴¹.

Embora as fórmulas infantis para prematuros tenham sido desenvolvidas com o objetivo de se aproximarem da composição do leite humano, algumas propriedades protetoras presentes no leite, como IgA secretora, lisozima, oligossacarídeos, entre outras, ainda não foram desenvolvidas artificialmente.

Sabe-se que a incidência de ECN é menor em recém-nascidos que recebem leite materno quando comparados aos que recebem fórmula⁴².

O leite humano contém propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, porém, estudar sua ação protetora contra o desenvolvimento de

ECNé um desafio, devido à dificuldade de se padronizar uma dieta à base de leite humano. Variações podem estar presentes, como por exemplo, aleitamento materno exclusivo, leite humano proveniente do banco de leite, presença ou ausência de aditivos no leite humano e leite materno complementado por fórmula para prematuros⁴³.

Uma meta análise sugeriu que o uso de leite humano reduz a incidência de ECN e que o uso do fortificante do leite materno não aumenta essa incidência⁴⁴. Um estudo prospectivo comparando o uso exclusivo do leite humano com o leite de vaca mostrou uma incidência de ECN 77% menor no grupo que recebeu somente leite humano⁴⁵.

Práticas alimentares têm sido relacionadas ao desenvolvimento de ECN. No entanto, a grande variação das práticas nutricionais entre as UTIs neonatais dificultam o estudo dessa questão⁴³. Estudos retrospectivos mostraram que o aumento rápido da dieta parece ser um fator de risco para a ECN⁴⁶, mas uma meta análise não confirmou essa hipótese⁴⁷.

Muitos prematuros necessitam de transfusões sanguíneas ao longo do curso na UTI neonatal, especialmente aqueles com peso inferior a 1.000 g⁴⁸. Ainda não está bem definida se a transfusão de concentrado de hemácias é um fator de risco independente para a ECN ou se os recém-nascidos transfundidos estariam, na realidade, manifestando sintomas iniciais da doença⁴⁹. Algumas teorias têm sido propostas para explicar essa associação: reação inflamatória sistêmica, aumento da viscosidade sanguínea e alteração no fluxo sanguíneo mesentérico durante a transfusão⁵⁰. Bailey *et al.* (2016), utilizando o *Near Infrared Spectroscopy* (NIRS), observaram que a oxigenação tecidual esplâncica foi significativamente menor durante a transfusão de concentrado

de hemácias se comparada com a oxigenação cerebral⁵¹. Marin *et al.* (2014), utilizando o mesmo método, demonstraram que, durante a transfusão sanguínea, a oxigenação mesentérica foi menor durante e após a dieta, e essa redução permaneceu por 15 horas. No entanto, ao se suspender a dieta durante a transfusão, houve uma tendência positiva na oxigenação mesentérica⁵².

Em 2013, um estudo de caso controle mostrou que a transfusão de concentrado de hemácias 48 horas antes do aparecimento de ECN parece ser um fator de risco independente para o desenvolvimento desta doença em prematuros⁵⁰. Contudo em 2014, um estudo retrospectivo que incluiu 414 recém-nascidos com peso < 1.500g que receberam 2.889 transfusões, não houve associação entre transfusão e ocorrência de ECN⁵³.

Patelet *al.* (2016), em uma análise secundária de um estudo multicêntrico e prospectivo investigando a transmissão do citomegalovírus via sanguínea em três unidades de terapia intensiva neonatal nos Estados Unidos, demonstraram que anemia severa foi um fator de risco independente para ocorrência de ECN. No entanto deste estudo a transfusão sanguínea não foi um fator de risco para ECN⁴⁹.

1.3.3 Fisiopatologia

A fisiopatologia da ECN ainda não é completamente compreendida; no entanto, estudos observacionais sugerem uma fisiopatologia multifatorial. Atualmente, acredita-se que existe uma combinação de fatores, como predisposição genética, imaturidade intestinal, desequilíbrio do tônus vascular,

colonização anormal intestinal e fatores imunológicos locais da parede intestinal que levam ao desenvolvimento da doença⁵⁴.

1.3.3.1 Predisposição genética

Existe uma possível suscetibilidade familiar e genética para enterocolitee outras morbidades neonatais. Análises de gêmeos suportam a teoria de que ECN, BDP e hemorragia intraventricular podem ter origem familiar. Achar um marcador genético sensível e específico poderia ser um bom teste para identificar os pacientes suscetíveis e ajudaria na prevenção da doença⁵⁵.

1.3.3.2 Imaturidade intestinal

A imaturidade na motilidade intestinal, absorção, digestão e defesas imunológicas provavelmente predispõe o intestino do prematuro a lesões com maior facilidade. A produção de suco gástrico ácido é deficiente no recém-nascido prematuro e isso tem-se mostrado associado à ECN, principalmente nos pacientes em uso de bloqueadores H₂⁵⁶.

Estudos em animais sugerem que prematuros apresentam uma reação inflamatória exacerbada - no nível da parede intestinal - relacionada à microbiota colonizadora, e essa resposta pode levar à alteração da barreira protetora do intestino. O epitélio intestinal tem função protetora contra patógenos e age como uma barreira bioquímica e física. Em prematuros, a barreira física não está completamente desenvolvida, aumentando a permeabilidade intestinal a bactérias. A camada de mucina, que cria uma barreira aderente às bactérias, está menos desenvolvida no prematuro, o que a torna menos eficaz. A barreira imunológica do intestino neonatal também é

imatura e a produção de IgA secretora, que tem a função de se combinar às bactérias, está diminuída nas primeiras semanas de vida²¹.

1.3.3.3 Colonização versus microbiota intestinal

O intestino do recém-nascido é estéril ou quase estéril. A colonização intestinal ocorre após o nascimento e pode ser variável⁵⁷. Quando adequada, é fundamental para o desenvolvimento de um intestino mais resistente. O período neonatal precoce representa um momento crucial para a colonização ocorrer de forma adequada, resultando em uma melhor homeostase intestinal.

Estudos sugerem que a microbiota do prematuro difere significativamente da microbiota do recém-nascido a termo^{58,59}. A microbiota deste, quando nascido de parto vaginal e alimentado exclusivamente com leite materno, é a referência de uma flora intestinal normal⁶⁰. Recém-nascidos prematuros podem apresentar padrões de colonização diferentes de acordo com o ambiente em que estão. O ambiente da UTI neonatal, com o predomínio de organismos patogênicos, pode afetar negativamente a colonização intestinal por bactérias comensais⁶¹. Além disso, eles são frequentemente expostos a antibióticos, o que tem sido associado ao aumento do risco para sepse e ENC^{62,63}.

Com o desenvolvimento de novas tecnologias para análise da microbiota intestinal em nível molecular, houve um grande progresso no entendimento da colonização intestinal do prematuro. Essa microbiota tem sido estudada, sendo composta por três classes: *clostridium*, bacilos e gammaproteobactéria.⁵⁷ É possível que a colonização inicial do intestino do prematuro com uma microbiota inapropriada seja um fator de risco para ECN.

Em um estudo prospectivo para investigar fatores predisponentes para ECN, Heida *et al.* (2016) identificaram uma flora bacteriana específica na análise do mecônio da população com ECN. A presença de *C. perfringens* no mecônio de recém-nascidos foi relacionada com ECN do primeiro dia de vida até o início da doença⁶⁴. Nota-se que a ECN ocorre pouco frequentemente em recém-nascidos com menos de uma semana de vida, sugerindo uma relação de colonização intestinal com aparecimento de ECN.

Estudos experimentais mostram que animais com intestino estéril, sem colonização bacteriana, não desenvolvem enterocolite. E, além disso, pacientes com ECN apresentam hemocultura positiva com certa frequência⁵⁴.

1.3.3.4 Alteração do tônus vascular

Inicialmente, acreditava-se que uma alteração no fluxo sanguíneo intestinal levando à hipóxia e isquemia era um dos principais contribuintes na fisiopatologia da ECN. A circulação intestinal do recém-nascido é diferente da circulação intestinal do adulto. A resistência vascular intestinal diminui consideravelmente após o nascimento e isso ocorre principalmente por um aumento na produção de óxido nítrico pelas células endoteliais dos vasos intestinais. A consequência dessa redução é o aumento significativo do fluxo sanguíneo intestinal. Entretanto, fatores que lesam o endotélio vascular podem acarretar a diminuição da produção de óxido nítrico e a consequente redução do fluxo sanguíneo intestinal. Fatores como translocação bacteriana, produção de fator ativador plaquetário e estase intestinal podem causar lesão endotelial intestinal, estando diretamente relacionados à ECN⁶⁵.

1.3.3.5 Mediadores inflamatórios

Similar à sepsis e à síndrome da angústia respiratória do adulto, a ECN envolve a via final da produção de mediadores inflamatórios com o desenvolvimento da injúria intestinal. Endotoxinas, fator ativador de plaquetas (FAP), fator de necrose tumoral (FNT) e outras citocinas, junto com as prostaglandinas, leucotrienos e óxido nítrico, parecem estar envolvidos na patogênese da ECN. Acredita-se que a excessiva resposta inflamatória do intestino imaturo - achado principal na ECN - é secundária a uma imaturidade no desenvolvimento do sistema imunológico inato do prematuro^{66,67}.

1.3.3.6 Probióticos

Os probióticos alteram a qualidade da mucosa intestinal, aumentam a motilidade intestinal e controlam a produção de citocinas inflamatórias⁶⁸. Eles reduzem efetivamente a incidência e a mortalidade relacionadas a ECN⁶⁹. Uma meta análise recente que reuniu 6.605 pacientes (3.324 no grupo probiótico e 3.281 no grupo controle) mostrou uma redução do risco para ECN em 47%, sendo necessário tratar 33 pacientes com probióticos para redução de 1 caso de enterocolite⁷⁰. A maioria dos estudos que mostraram benefício usou uma combinação de bifidobactérias⁷¹. Um estudo randomizado controlado utilizando probióticos, prebióticos e placebo revelou uma menor incidência de ECN no grupo que recebeu probióticos⁷².

Algumas questões relacionadas ao uso de probióticos ainda não foram esclarecidas, a saber: a dose e o tipo de espécie ideal para a composição das soluções, a falta de evidência em grandes estudos randomizados em relação a

seguimento a longo prazo e a segurança em relação à mortalidade e à infecção relacionada ao uso dessas bactérias.

Embora nos estudos acima citados não tenha havido nenhum caso de sepse relacionada ao uso dessas preparações, existe uma preocupação em relação ao seu uso em prematuros com peso inferior a 1.000g⁷³. Uma atenção especial deve ser dada a essa questão, uma vez que recentemente foram publicados relatos de casos descrevendo sepse por lactobacilos em três prematuros com peso de nascimento < 1.000g e que recebiam suplementação de probióticos^{74,75}.

1.3.4 Manifestações clínicas

1.3.4.1 Apresentação clínica

A apresentação clínica de ECN varia, podendo ter iniciolento com progressão gradual em dias até um início abrupto e fulminante, com evolução para choque e disfunção de múltiplos órgãos em poucas horas. O início da apresentação está inversamente relacionado à idade gestacional. Quanto mais imaturo é o recém-nascido, mais tardia costuma ser a apresentação da doença⁷⁶.

As manifestações clínicas sistêmicas são, na maioria das vezes, inespecíficas, e incluem apneias, taquicardia, taquipneia, palidez, letargia, instabilidade térmica e hiperglicemia.

Sintomas gastrointestinais na doença precoce, como intolerância alimentar, aumento dos resíduos gástricos, distensão abdominal e sangue nas

fezes podem estar presentes. Com a evolução da doença, o abdômen pode evoluir com alteração da coloração, ficando eritematoso e doloroso. Nos casos de perfuração intestinal, ele geralmente se apresenta azulado, mais tenso e doloroso. Recém-nascidos prematuros extremos podem apresentar coloração azulada da bolsa escrotal nos casos de perfuração. A distinção entre ECN e perfuração intestinal espontânea pode ser bem difícil de ser feita clinicamente⁷⁷.

1.3.4.2 Achados laboratoriais

Os achados laboratoriais também são inespecíficos e normalmente demonstram um estado de aumento da inflamação sistêmica. Anemia está presente com frequência. Os achados no leucograma variam desde leucopenia com neutropenia até leucocitose com desvio à esquerda. A plaquetopenia está presente frequentemente e é um fator de pior prognóstico. A hemocultura é positiva em 40-60% dos casos de ECN, sendo mais comum a infecção por bactérias *Gram* negativas⁷⁷. Acidose metabólica e hiponatremia podem estar presentes. A proteína C reativa costuma estar aumentada, porém, não auxilia no diagnóstico. Sua importância clínica está relacionada ao acompanhamento da doença, e espera-se uma queda quando o paciente apresenta melhora. A permanência alta da PCR pode indicar complicações, como abscessos, estenose ou fístula²¹. A recorrência pode estar presente em 5-6% dos casos, sendo associada à cardiopatia congênita, infecção por rotavírus e alergia ao leite materno^{77,78}.

1.3.4.3 Achados radiográficos

A pneumatose intestinal, cujo achado é o mais comum na doença, podendo ser linear ou cístico, confirma o diagnóstico de ECN. Ar no espaço porta (pneumoporta) também pode estar presente e geralmente está associado a uma doença mais avançada, indicando um pior prognóstico. A ocorrência de pneumoperitônio indica perfuração intestinal. Achados inespecíficos, como distensão gasosa, alça sentinela fixa e diminuição gasosa global, também podem se manifestar⁷⁹.

Um sistema de classificação de ECN foi proposto inicialmente por Bell em 1978⁷⁹ mas já sofreu modificações desde sua publicação inicial. Reúne achados clínicos de exame físico do sistema gastrointestinal, com achados radiográficos para definição e classificação de estágios da doença. Essa classificação é largamente utilizada para definição do diagnóstico, categorização de ECN e orientação do tratamento a ser realizado.

Crítérios de BELL modificados	Manifestações clínicas	Manifestações gastrointestinais	Radiografia de abdômen
1 ECN suspeita	Apneia, bradicardia, distermia	Resido gástrico, sangue oculto, distensão abdominal	Normal, discreto íleo
2A ECN confirmada	Apneia, bradicardia, distermia	Sangue vivo, distensão abdominal mais acentuada	Presença de pneumatose focal
2B ECN confirmada	Plaquetopenia, acidose metabólica leve	Edema de parede abdominal, alças palpáveis	Pneumatose extensa, pneumoporta, com ou sem ascite
3A ECN avançada	Acidose mista, oligúria, hipotensão, CIVD	Piora do edema, eritema e enduração	Ascite definida, ausência de pneumoperitônio
3B ECN avançada	Choque, deterioração geral	Intestino perfurado	Presença de pneumoperitônio

1.3.5 Diagnóstico diferencial

O diagnóstico diferencial inclui íleo infeccioso, íleo metabólico, atresia intestinal, doença de Hirschsprung, volvo, íleo meconial e alergia ao leite de vaca. O seguimento clínico e radiográfico com um exame físico cauteloso associado a radiografias de abdômen seriadas vão direcionar o diagnóstico final.

1.3.6 Tratamento

1.3.6.1 Clínico

A maioria dos pacientes com ECN pode ser conduzida com suporte clínico. Na suspeita clínica e radiográfica de ECN, deve-se suspender a dieta enteral e iniciar dieta zero com sonda orogástrica aberta com o objetivo de proporcionar um descanso intestinal. Faz-se necessário o início de hidratação venosa para suporte hidroeletrolítico, além de nutrição parenteral total para suporte nutricional. Inicia-se também antibiótico de amplo espectro para cobertura de *Gram* positivas e *Gram* negativas pela frequente associação com sepsis. A cobertura antimicrobiana para anaeróbios deve ser iniciada na presença de perfuração intestinal. Deve-se colher hemocultura e cultura de urina para melhor definição da duração e do tipo de antibiótico, que varia de 7 a 14 dias. O suporte dos outros sistemas vai depender da apresentação clínica e da necessidade individual de cada paciente. Suporte hemodinâmico com volume e aminas vasoativas pode ser necessário, além do uso de corticóide - para tratamento da hipotensão arterial - e choque. Os pacientes podem evoluir com insuficiência respiratória, sendo necessário suporte respiratório com

pressão positiva e ventilação mecânica. Anemia, plaquetopenia e coagulopatia podem estar presentes, sendo necessários transfusão de concentrado de hemácias, plaquetas, plasma e crioprecipitado. Na ausência de perfuração intestinal, devem ser realizadas radiografias abdominais seriadas a cada 8-12 horas com o objetivo de identificar pneumoperitônio para possível indicação cirúrgica^{54,77}.

1.3.6.2 Cirúrgico

A abordagem cirúrgica compreende basicamente dois tipos de intervenção: a laparotomia exploradora ou a colocação de um dreno peritoneal. O tratamento cirúrgico possui como objetivos a remoção de tecido intestinal necrosado, a preservação de tecido intestinal saudável e a estabilização clínica do paciente. Até o momento não existe nenhum recurso clínico que consiga prever a extensão da necrose intestinal e o momento exato para intervenção cirúrgica. O ideal seria a abordagem cirúrgica no momento em que o processo de necrose pudesse ser detectado precocemente com remoção completa.

A laparotomia exploradora é uma das principais intervenções cirúrgicas da enterocoliteneocrosante e opneumoperitônioé a indicação para cirurgia mais amplamente utilizada. Outras indicações menos frequentes são: deterioração clínica importante apesar do tratamento clínico máximo, trombocitopenia persistente, ascite, imagem radiológica persistente altamente suspeita de ECN associada a achados clínicos desfavoráveis.

A laparotomia exploradora com ressecção do tecido intestinal necrosado e a realização de enterostomiasão largamente utilizadas como cirurgias de

escolha para ECN. O objetivo da realização da enterostomia é permitir a recuperação do intestino remanescente, evitando a anastomose de alças inflamadas e possíveis complicações. No entanto, 23-34% dessas ostomias apresentam complicações, como deiscências, escoriações na pele, estenose, prolapso, infecção e fístula^{80,81}. A reanastomose é feita normalmente após 4 a 8 semanas dependendo da extensão e da gravidade da doença.

Por muito tempo, a laparotomia exploradora foi a intervenção inicial de escolha para o manejo cirúrgico de ECN. Com o passar do tempo, a colocação do dreno peritoneal se tornou uma alternativa à laparotomia e vem sendo utilizada cada vez mais como intervenção de primeira escolha.

Existem ainda controvérsias na literatura se a colocação do dreno peritoneal apresenta melhores resultados se comparada à laparotomia. Em 2006, um estudo prospectivo multicêntrico observacional, que contou com a participação de 16 centros americanos, mostrou um resultado de morte ou seqüela neurológica maior no grupo submetido à colocação do dreno. No entanto, observou-se que os pacientes submetidos à colocação do dreno eram mais graves. Foram realizados então, ajustes para variáveis de confundimento e restrição da coorte de pacientes, com exclusão dos pacientes mais graves. Após essa análise não houve diferença estatística entre os grupos⁸².

Dois ensaios clínicos randomizados e controlados – um europeu e outro americano –, comparando colocação de dreno peritoneal com laparotomia exploradora, mostraram resultados semelhantes em relação à morte, à necessidade de nutrição parenteral e ao tempo de permanência no hospital^{83,84}. Estudo recente indicou que a colocação do dreno seguida de laparotomia foi

associada a uma redução da mortalidade quando comparada à colocação do dreno como medida única de tratamento⁸⁵.

1.3.7 Complicações

A mortalidade relacionada à ECN, que chega a 50%, é inversamente proporcional à idade gestacional ao nascimento e varia com a extensão da necrose intestinal^{11,54}.

Outras complicações incluem estenose pós ECN, fístulas enterocutâneas, colestase e síndrome do intestino curto com falência intestinal e hepática. As estenoses pós ECN geralmente aparecem de 3 a 8 semanas após o quadro agudo, mas podem se apresentar meses depois. Nesses casos, o diagnóstico é feito por exame contrastado. O cólon é o local principal de aparecimento das estenoses, mas elas também podem surgir no íleo.^{86,87}

Sabe-se que pacientes com ECN que tiveram tratamento cirúrgico têm maior chance de apresentar problemas relacionados ao neurodesenvolvimento. Um estudo retrospectivo realizado pelo NICHD comparou a presença de morte ou de sequelas do neurodesenvolvimento em pacientes com NEC que tiveram tratamento cirúrgico, perfuração intestinal espontânea e sem NEC. Foi demonstrado que os piores resultados estavam relacionados aos pacientes com NEC cirúrgica, sendo 53% de mortalidade antes da alta e 82% de sequelas neurológicas⁸⁸.

1.4 Objetivo

1.4.1 Objetivo geral

Descrever a incidência e os fatores de risco de enterocoliteneosante e sua associação com mortalidade em uma população brasileira de recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer.

1.4.2Objetivos específicos

- Descrever as características demográficas da população com e sem ECN;
- Verificar os fatores de risco para ECN na população;
- Analisar a incidência de ECN nas unidades estratificadas por faixas de mortalidade.

1.5 Materiais e Métodos

1.5.1 Desenho do estudo

Estudo de coorte.

1.5.2 Cenário

Maternidades brasileiras participantes da Rede Perinatal e da Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais.

1.5.3 Fonte dos dados

Os dados referentes as maternidades da Rede Perinatal foram extraídos do banco de dados da Vermont Oxford Network e os referentes as maternidades

da Rede Brasileira foram extraídos do banco de dados da Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais.

A Vermont Oxford Network é uma instituição voluntária sem fins lucrativos, com aproximadamente 1000 centros em todo mundo, que objetiva o registro de dados de recém-nascidos menores de 1500g. Os bancos de dados são usados para fornecer relatórios abrangentes, confidenciais que servem como um fundamento essencial para projetos de melhoria da qualidade locais para os centros participantes.

A Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais reúne dados das internações de recém-nascidos provenientes de 20 UTIN de diversas regiões do país, de forma prospectiva, formando um banco de dados completo e com informações disponíveis sobre a internação, a evolução clínica e o desfecho de recém-nascidos com peso inferior a 1.500 gramas. Anualmente, cerca de 1.200 recém-nascidos têm seus dados registrados nesta base, que se constitui num acervo importante de estudo e análise.

1.5.4 População

A população foi constituída de todos os recém-nascidos de muito baixo peso (< 1.500g) admitidos nessas UTI neonatais de janeiro de 2009 até junho de 2013. Foram excluídos do estudo recém-nascidos com malformações congênitas e os que apresentaram óbito precoce (nas primeiras 12 horas de vida).

1.5.5 Variáveis

As variáveis antenatais analisadas foram uso de corticoide antenatal (qualquer dose), hipertensão materna, corioamnionite e gemelaridade. Tipo de parto e necessidade de reanimação ao nascimento foram as variáveis perinatais. As pós-natais foram sexo, idade gestacional, peso de nascimento e Apgar de primeiro e quinto minutos. Analisaram-se a mortalidade e outras morbidades neonatais, como doença de membrana hialina, uso de surfactante, persistência do canal arterial, sepse precoce e tardia.

Na população deste estudo, ECN foi definida pela presença de sintomas gastrointestinais sugestivos da doença, como distensão abdominal e sangramento intestinal, associados à presença de pneumatose intestinal, ar na veia porta ou pneumoperitônio na radiografia de abdômen. Foi utilizada a classificação de Bell estágio 2 ou mais para definição dos casos.

Nas bases de dados, existe uma definição clara de ECN cirúrgica e perfuração intestinal espontânea. Os casos definidos como perfuração intestinal espontânea foram excluídos.

1.5.6 Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada no programa SPSS. A incidência de ECN foi estudada por unidade e por ano. Inicialmente foram realizadas análises para explorar associações entre ECN e fatores tradicionalmente associados a esta patologia tais como peso de nascimento, idade gestacional, hipertensão materna, corioamnionite, corticóide antenatal, Apgar, tipo de parto, intubação na sala de parto, gemelaridade, sexo, hipotermia, persistência do canal arterial,

ligadura cirúrgica do canal arterial, sepse precoce e sepse tardia. Utilizaram-se o teste do t para as variáveis contínuas com distribuição normal e o teste do Qui quadrado para as variáveis categóricas.

Em função da variabilidade dos resultados entre as diferentes UTIN, foram definidas três categorias para análise, de acordo com a taxa de mortalidade: a primeira com mortalidade inferior a 20%, a segunda com mortalidade entre 20 e 30% e a terceira com mortalidade superior a 30%. Realizaram-se análises separadas por extrato de mortalidade com o objetivo de melhor explorar os fatores de risco desta população.

O ajuste dos fatores de risco foi feito com regressão logística multivariada. Inicialmente foram incluídas no modelo multivariado as variáveis que apresentaram significância estatística na análise univariada ($p < 0.1$) e as descritas na literatura de risco para ECN. Essa análise foi repetida por extrato de mortalidade.

Realizou-se também uma análise dos fatores de risco para óbito com o objetivo de verificar a importância da ECN para este desfecho.

Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) do Instituto Fernandes Figueira. CAAE:51107315.1.0000.5269.

Capítulo 2: Artigo

Título: Enterocoliteneccrosante: fatores de risco e associação com a mortalidade em 17 unidades brasileiras de terapia intensiva neonatal em cinco anos

Introdução

A prematuridade é um dos maiores desafios na assistência perinatal¹. Nos últimos anos, o uso do surfactante para tratamento de doença de membrana hialina e do corticoide antenatal para aceleração do amadurecimento pulmonar teve impacto significativo na mortalidade dos prematuros². Entretanto, sabe-se que, apesar da redução da mortalidade, algumas morbidades relacionadas à prematuridade não sofreram redução significativa. A broncodisplasia pulmonar, a retinopatia da prematuridade e a enterocoliteneccrosante continuam sendo grandes questões na neonatologia atual³.

A enterocoliteneccrosante é a doença gastrointestinal mais comumente adquirida no período neonatal e ocorre predominantemente em recém-nascidos prematuros. Muitas vezes, as suas consequências, como necrose intestinal, sepse e morte, não podem ser evitadas mesmo com a detecção precoce e o tratamento agressivo da doença^{4,5}. A incidência de ECN varia entre diferentes UTIs neonatais, sendo reportada entre 3% e 11% nos prematuros de muito baixo peso ao nascer^{6,7}. Sabe-se que existe uma relação inversamente proporcional bem definida entre incidência de ECN e idade gestacional ao nascimento, sendo os prematuros de muito baixo peso (< 1.500g) ao nascer os de maior risco para a ocorrência da doença^{2,8,9,89}. A mortalidade relacionada à ECN pode variar de 20% a 50%, porém, nos casos graves, pode chegar a 100%¹⁰⁻¹². A fisiopatologia da ECN ainda não é completamente esclarecida. No

entanto, acredita-se ser uma doença com fisiopatologia multifatorial. Fatores como imaturidade intestinal, desequilíbrio do tônus vascular, colonização anormal intestinal e fatores imunológicos locais da parede intestinal contribuem para o desenvolvimento da doença¹³. Estudos no nível molecular sugerem que a resposta inflamatória individual exerce um importante papel na patogênese a doença^{14,15}. Além da prematuridade, outros fatores de risco estão envolvidos na fisiopatologia da doença, como asfixia, infecção bacteriana, isquemia mesentérica e práticas alimentares⁴.

O objetivo deste estudo é descrever a incidência, os fatores de risco de enterocolitene necrosante e sua associação com mortalidade em uma população brasileira de recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer.

Método

Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo de dados colhidos prospectivamente em UTIN brasileiras. Eles foram extraídos dos bancos de dados da Vermont Oxford Network e da Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais.

A população foi constituída de todos os recém-nascidos admitidos nestas UTI neonatais, com peso de nascimento entre 500g e 1.500g, e idade gestacional entre 24 semanas e 36 semanas e 6 dias, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013. Foram excluídos do estudo recém-nascidos com malformações congênitas e os que apresentaram óbito precoce (nas primeiras 12 horas de vida).

As variáveis antenatais analisadas foram uso de corticoide antenatal (qualquer dose), hipertensão materna, corioamnionite e gemelaridade. Tipo de parto e necessidade de reanimação ao nascimento foram as variáveis perinatais. As pós-natais foram sexo, idade gestacional, peso de nascimento e Apgar de primeiro e quinto minutos. Analisaram-se a mortalidade e outras morbidades neonatais, como doença de membrana hialina, uso de surfactante, persistência do canal arterial, sepse precoce e tardia.

Na população, enterocoliteneccrosante foi definida pela presença de sintomas gastrointestinais sugestivos da doença, como distensão abdominal e sangramento intestinal, associados à presença de pneumatose intestinal, ar na veia porta ou pneumoperitônio na radiografia de abdômen. Foi utilizada a classificação de Bell estágio 2 ou mais para definição dos casos.

Nas bases de dados, existe uma definição clara que diferencia ECN cirúrgica de perfuração intestinal espontânea. Os casos definidos como perfuração intestinal espontânea foram excluídos.

A análise dos dados foi realizada no programa SPSS. A incidência de ECN foi estudada por unidade e por ano. Inicialmente foram realizadas análises para explorar associações entre ECN e fatores tradicionalmente associados a esta patologia, tais com peso de nascimento, idade gestacional, hipertensão materna, corioamnionite, corticóide antenatal, Apgar, tipo de parto, intubação na sala de parto, gemelaridade, sexo, hipotermia, persistência do canal arterial, ligadura cirúrgica do canal arterial, sepse precoce e sepse tardia. Utilizaram-se o teste do t para as variáveis contínuas com distribuição normal e o teste do *Qui quadrado* para as variáveis categóricas.

Em função da variabilidade dos resultados entre as diferentes UTIN, foram definidas três categorias para análise, de acordo com a taxa de mortalidade: a primeira com mortalidade inferior a 20%, a segunda com mortalidade entre 20 e 30% e a terceira com mortalidade superior a 30%. Realizaram-se análises separadas por extrato de mortalidade com o objetivo de melhor explorar os fatores de risco desta população.

O ajuste dos fatores de risco foi feito com regressão logística multivariada. Inicialmente foram incluídas no modelo multivariado as variáveis que apresentaram significância estatística na análise univariada ($p < 0,1$) e os fatores de risco tradicionalmente associados a ECN. Essa análise foi repetida por extrato de mortalidade.

Realizou-se também uma análise dos fatores de risco para óbito com o objetivo de verificar a importância da ECN para este desfecho.

Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) do Instituto Fernandes Figueira. CAAE: 51107315.1.0000.5269.

Resultados

Foram analisados dados referentes a 17 UTI neonatais, sendo 3 unidades da Vermont Oxford Network e 14 da Rede Brasileira de Pesquisa Neonatais. Das 20 unidades da Rede Brasileira, uma unidade não autorizou a utilização de seus dados e as outras haviam sido incorporadas recentemente à Rede Brasileira, com bancos de dados ainda incompletos.

Um total de 8.307 recém-nascidos foi incluído na análise, dentre os quais 489 (5,9%) apresentaram ECN. A figura 1 mostra a incidência de ECN por unidade de estudo. O peso médio da população era de 1.076 g (± 276 g), a idade gestacional média de 29 semanas ($\pm 2,9$ semanas), 3.177 recém-nascidos pesavam menos de 1.000g e 49% eram do sexo masculino. Dos 489 pacientes com ECN, 315 (64,5%) foram tratados clinicamente e 174 (35,5%) foram submetidos à cirurgia. Foram excluídos 106 recém-nascidos que apresentaram perfuração intestinal espontânea.

Observou-se a presença de hipertensão materna em 3.329 (40%), de corioamnionite em 871 (10%) e do uso de corticoide antenatal em 5.906 (71%) da população. O parto cesáreo ocorreu mais frequentemente do que o parto vaginal, totalizando 6.085 casos (73%). Em relação ao nascimento e à necessidade de reanimação, o Apgar de primeiro minuto foi de 5,9 ($\pm 2,4$) e de quinto minuto, 8 ($\pm 1,6$); 2.836 (34,8%) necessitaram de intubação na sala de parto e 338 (5,2%) de massagem cardíaca.

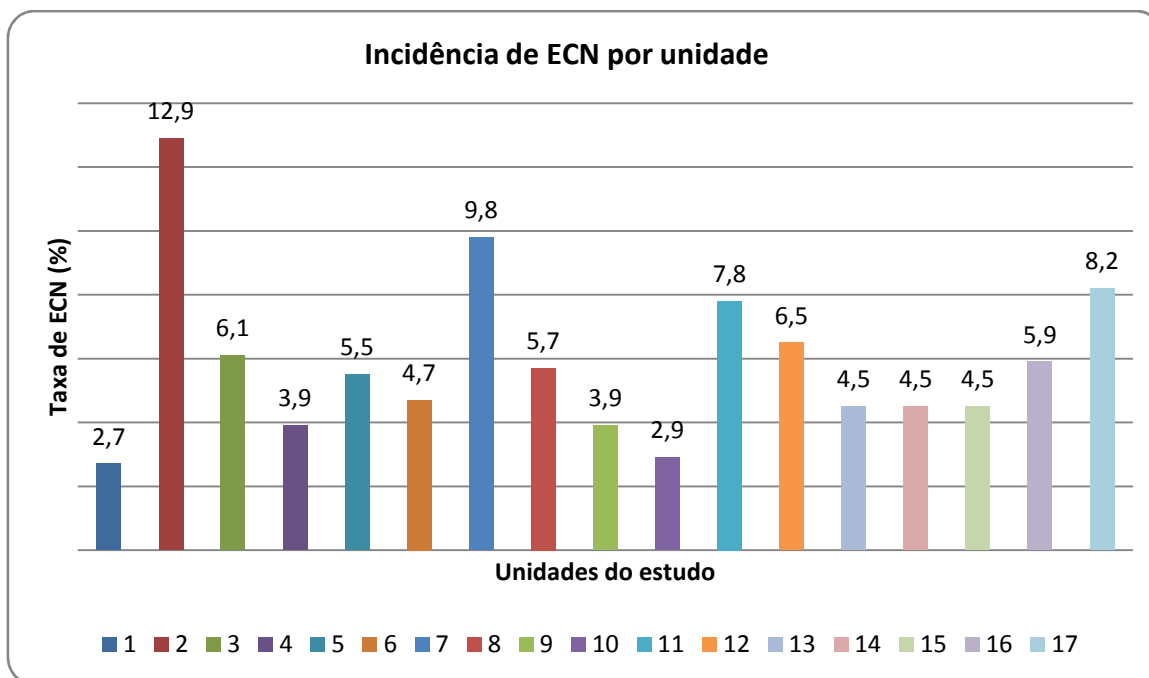


Figura 1: Incidência de ECN por unidade

Um total de 2.877(34,6%) apresentou persistência do canal arterial, dentre os quais 417 (5%) necessitaram de ligadura cirúrgica. Foram observados 5.520 (66,4%) casos de doença da membrana hialina, sendo que 4.545 (54,7%) receberam surfactante em algum momento. Entre os recém-nascidos admitidos, 2.018 (24,4%) apresentaram hemorragia intracraniana de algum grau, sendo 568 (6,8%) hemorragia intracraniana grave. Do total, 449 (5,4%) recém-nascidos receberam corticoide pós-natal. A mortalidade foi de 21,3% e o tempo médio de internação, de 50 dias (± 37).

A análise univariada mostrou que recém-nascidos com ECN apresentaram menor peso, menor idade gestacional, maior frequência de intubação na sala de parto – 228 (56%) x 2.602 (42%) – e uma diferença estatisticamente significativa no Apgar de primeiro e quinto minutos (Tabela1). ECN foi mais frequente em recém-nascidos que apresentaram doença da

membrana hialina – 77% x 68%($p<0,001$) –, que evoluíram com PCA – 50% x 33% ($p<0,001$) –, que foram submetidos à ligadura cirúrgica do canal arterial – 9,6% x 4,7% ($p<0,001$) – e que receberam ventilação mecânica em algum momento após a internação (Tabela 2). Houve uma maior ocorrência de ECN nas faixas de menor peso. Esse padrão se manteve nos casos cirúrgicos.(Figura 2). Não houve diferença estatística entre os grupos em relação à hipertensão materna, à corioamnionite, ao corticoide antenatal, ao tipo de parto, ao sexo, à gemelaridade e à presença de hipotermia na admissão. Recém-nascidos com ECN ficaram mais tempo na UTIN do que os que não tiveram a doença – 64 x 49 dias ($p<0,001$).

Tabela 1: Análise univariada: características dos recém-nascidos com e sem ECN

	Sem ECN (%)	Com ECN (%)	p valor	OR (IC)
Número de RN	7818	489		
PN	1.084,83	955,68	< 0,0001	± 255
IG	29,58	29,52	<0,0001	± 2,87
PN < 1000g	2885 (36)	292 (59)	< 0.0001	2,52 (2,09-3,04)
Hipertensão materna	3131 (40)	192 (39)	0,68	0,95 (0,79-1,15)
Corioamnionite	814 (11)	55 (13)	0,32	1,15 (0,86-1,55)
Corticóideantenatal	5543(71)	357(73)	0,54	1,06 (0,86-1,30)
Apgar 1	6,00	5,26	<0,001	±2,45
Apgar5	8,08	7,73	<0,001	±1,68
Cesárea	5715(73)	364(74)	0,58	1,05 (0,85-1,30)
Intubação	2602(42)	228(56)	<0,001	1,73 (1,41-2,12)
Gemelaridade	1956(25)	118(24)	0,64	0,95 (0,76-1,17)
Sexo masculino	3829 (49)	343 (49)	0,82	1,02 (0,85-1,22)
Hipotermia	4862(62)	292(59)	0,25	0,89 (0,75-1,08)

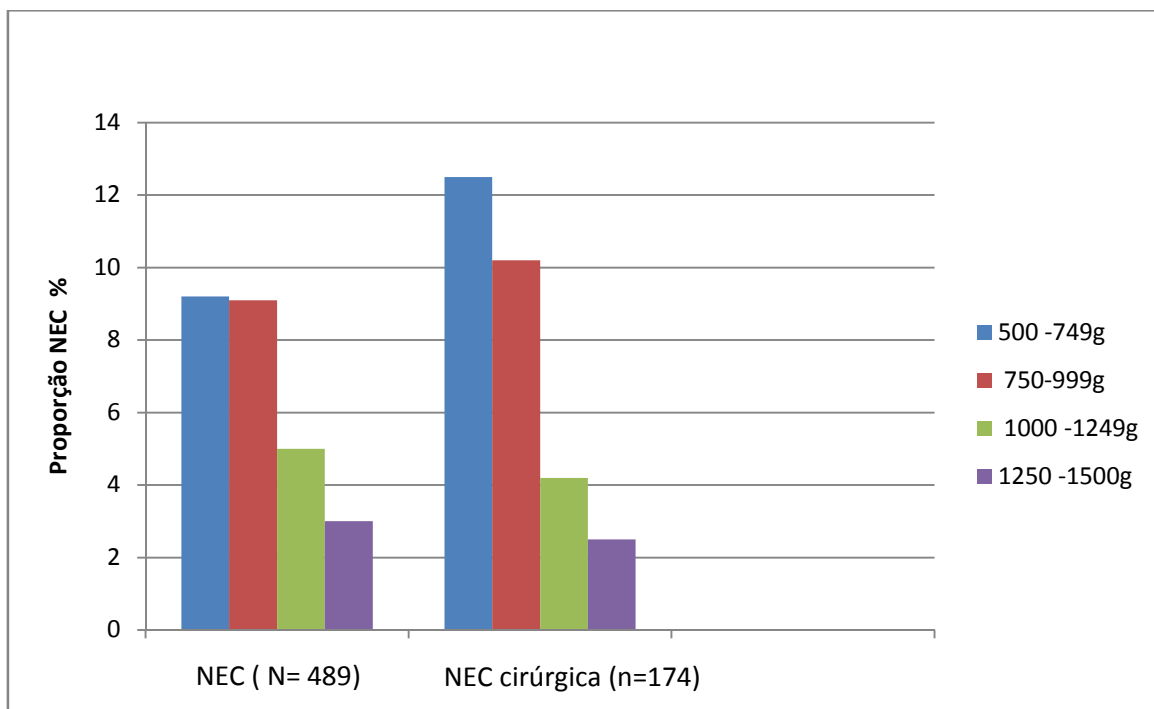


Figura 2: Relação de ECN com faixa de peso

Enterocolite e óbito

A enterocoliteneccrosante foi um fator importante na determinação do óbito neonatal, sendo sua taxa de mortalidade 40%, contra 20% dos recém-nascidos que não apresentaram a doença ($p < 0,001$).

A associação entre ECN e óbito também ficou evidente quando se comparou a ocorrência da doença por extrato de mortalidade, sendo 3,9% na categoria 1, 7% na categoria 2 e 6,4% na categoria 3 ($p < 0,001$) (Tabela 3).

Tabela 2: Análises univariadas: fatores de risco para ECN na população geral

	Sem ECN (%)	Com ECN(%)	p valor	OR (IC)
Membrana hialina	5149 (68)	371 (77)	<0,001	1,53 (1,22-1,90)
PCA	2628(33)	249(50)	<0,001	2,04 (1,70-2,45)
Ligadura cirúrgica CA	370(4,7)	47(9,6)	<0,001	1,98 (1,42-2,75)
Sepse precoce	213 (2,7)	18 (3,4)	0,21	1,36 (0,83-2,22)
Sepse tardia	1402 (18,0)	238 (48,7)	<0,001	4,33 (3,59-5,21)

Tabela 3: Incidência de ECN por faixa de mortalidade

	ECN (%)	p valor
Óbito <20%	91(3,9)	<0,001
Óbito 20-30%	202(7,1)	<0,001
Óbito >30%	196(6,4)	<0,001

Análise multivariada

Os fatores de risco que se relacionaram à ECN, ajustados através da análise multivariada, foram Apgar de primeiro minuto, sepse tardia e peso de nascimento. Embora PCA tenha entrado no modelo, não diferença estatística. (Tabela 4).

Tabela 4: Análise multivariada ECN na população total

	OR	p valor	IC (95%)
Apgar 1	0,93	0,004	0,89-0,97
PCA	1,26	0,05	0,99-1,60
Sepse tardia	3,34	<0,001	2,56-4,10
Peso	0,99	<0,001	0,99-0,99

Quando se realiza a análise multivariada dos fatores de risco para ECN nos três extratos de mortalidade, observa-se que:

- Na categoria 1 (mortalidade < 20%), os fatores de risco foram Apgar de primeiro minuto, sepse tardia e uso de surfactante em algum momento (Tabela 5).

Tabela 5: Análise multivariada ECN na categoria 1 (mortalidade < 20%)

	OR	p valor	IC (95%)
Apgar 1	0,84	0,001	0,75-0,93
Sepse tardia	4,57	<0,001	2,89-7,21
Surfactante	2,13	0,02	1,12-4,08

- Na categoria 2 (mortalidade entre 20-30%) os fatores de risco foram peso de nascimento, canal arterial e sepse tardia (Tabela 6).

Tabela 6: Análise multivariada ECN na categoria 2 (mortalidade 20-30%)

	OR	p valor	IC (95%)
PCA	1,80	0,004	1,20-2,69
Sepse tardia	1,99	<0,001	1,36-0,92
Peso	0,999	0,02	0,99-1,00

- Na categoria 3 (mortalidade > 30%) os fatores de risco foram peso de nascimento, sepse precoce e sepse tardia (Tabela 7).

Tabela 7: Análise multivariada ECN na categoria 3 (mortalidade > 30%)

	OR	p valor	IC (95%)
Sepse precoce	2,66	0,006	1,32-5,39
Sepse tardia	3,48	<0,001	2,41-5,09
Peso	0,999	0,02	0,99-1,00

Realizou-se também uma análise multivariada para identificar a importância da ECN para óbitos e os fatores relacionados a ele. Os fatores significativos no modelo foram corticoide antenatal, hipertensão materna, Apgar de primeiro e quinto minutos, parto cesáreo, sexo masculino, canal arterial, sepse precoce, sepse tardia, peso de nascimento, surfactante em algum momento e presença de ECN. Dessa forma, constata-se que ECN se associa a óbito mesmo após ajuste para os vários fatores de risco.

Discussão

A incidência geral de ECN foi de 5,9% nesta população, compatível com a incidência previamente descrita na literatura em outros países.^{6,7} Observa-se que ECN foi mais frequente em recém-nascidos com peso inferior a 1.000g, sendo 292 casos entre os 3.177 recém-nascidos nesta faixa de peso (9,2%), o que representa 60% de todos os casos de ECN.

Existe uma preocupação global em relação ao aumento da incidência de certas patologias, como por exemplo, ECN e BDP como consequência dos avanços na medicina perinatal e da redução da mortalidade. Os trabalhos têm resultados conflitantes no que tange à ocorrência de ECN ao longo do tempo. Embora estudo recente tenha demonstrado uma crescente incidência da doença no decorrer dos anos⁵, nesta população ela permaneceu estável nos cinco anos do estudo. Esses resultados foram semelhantes àqueles encontrados pelos americanos Fanaroff *et al*, Stoll *et al* e pelos japoneses Kusuda *et al*.^{10,90,91}

Nota-se que, assim como descrito na literatura, peso de nascimento e idade gestacional foram fatores de risco para ECN. Intubação na sala de parto e Apgarscore de primeiro e quinto minutos também foram associados à ocorrência de ECN, sugerindo uma possível associação da doença com asfixia perinatal.

Foi verificado que bebês nascidos de cesariana apresentaram menor incidência de ECN do que aqueles nascidos de parto vaginal. Talvez o estresse

causado ao bebê pelo parto normal seja uma explicação do aumento do risco conferido pelo por esse tipo de parto.⁷

Em análise univariada, foi constatado um aumento da incidência de ECN nos recém-nascidos com membrana hialina. Nesse caso, pensou-se ser provável que a doença seja um marcador de gravidade inicial, justificando uma maior incidência de ECN. Após análise multivariada, essa associação não se confirmou.

Como já descrito anteriormente, observa-se uma relação positiva entre persistência do canal arterial e ECN. Em termos de fisiopatologia, a explicação seria um canal arterial hemodinamicamente significativo levando a um roubo de fluxo diastólico na artéria aorta descendente e mesentérica superior, gerando assim uma hipoperfusão intestinal e predispondo a ocorrência da doença.⁹²⁻⁹⁴

Constatou-se, também, que recém-nascidos submetidos à ligadura cirúrgica do canal arterial apresentaram ECN com maior frequência. Alguns autores sugerem que alterações hemodinâmicas causadas pelo clampeamento do canal arterial, como por exemplo, a súbita redução do débito cardíaco e o súbito aumento da resistência vascular periférica, podem ter impacto na perfusão intestinal, predispondo assim, a ocorrência de ECN.^{95,96}

A enterocoliteneccrosante parece ter uma associação com infecção embora até hoje não tenha sido descrito um patógeno específico causador da doença. Sabe-se que a ECN pode acontecer de forma epidêmica, e que medidas gerais de controle de infecção costumam ser efetivas no controle, sugerindo base infecciosa para os surtos.⁷⁷ Além disso, é fato que a lesão de

reperfusão está envolvida na indução da cascata inflamatória, lesão do endotélio vascular e aumento da susceptibilidade à translocação bacteriana.^{21,67} Na população estudada, pacientes com sepse tardia tiveram um risco 4,3 vezes maior de apresentarem ECN.

Em análise multivariada, os fatores de risco que permaneceram no modelo foram peso de nascimento, Apgar de primeiro minuto e sepse tardia. A persistência do canal arterial teve significância limítrofe.

Como descrito na literatura, idade gestacional e peso de nascimento são fatores de risco bem estabelecidos para a ocorrência de ECN.^{7,94} Neste estudo, o peso de nascimento foi um fator de risco independente para a doença, mesmo após ajuste no modelo multivariado.

Foi observada uma maior incidência de ECN nos extratos de maior mortalidade. Houve uma diferença significativa principalmente entre a categoria 1 (mortalidade < 20%) e as categorias 2 e 3 (mortalidade > 20%). Acredita-se que a grande variabilidade existente entre as práticas de cada unidade poderia explicar a diferença de incidência de ENC entre os centros.

A ECN foi um fator importante na determinação do óbito neonatal, sendo sua taxa de mortalidade 40%, contra 20% dos recém-nascidos que não apresentaram a doença. A mortalidade nos pacientes com ENC foi alta, assim como a descrita por Bisquera *et al* .⁹⁷ Ao se analisar o desfecho óbito em um modelo multivariado, verifica-se que a ECN é um fator de risco independente para óbito. Em um estudo alemão, a mortalidade dos pacientes com ECN foi de 19%, enquanto que a taxa de mortalidade referente aos pacientes sem a

doença foi de 6,2%.⁹⁸ Esse fato reforça a importância de se estudar a ECN no contexto brasileiro.

Acredita-se que o ponto forte deste estudo é a grande amostra do estudo de coorte de recém-nascidos em 17 UTIN distribuídas por todo Brasil. Além disso, as variáveis eram bem definidas e a coleta de dados foi feita prospectivamente. No entanto, como foi um estudo de coorte retrospectivo, a análise ficou restrita às variáveis pré-existentes do banco de dados. Alguns fatores importantes, como práticas alimentares, utilização de leite humano ou fórmula, momento do início da dieta, entre outros, não foram analisados.

É fato que a incidência de ECN nesta população foi comparável à incidência nos países desenvolvidos.⁹⁹ Especulou-se que uma possível explicação seria a utilização em larga escala do leite humano proporcionada pela grande quantidade de bancos de leite pelo país.

Conclusão

Foi descrita a ocorrência de ECN em uma grande parte da população brasileira. Apesar das limitações, este estudo mostrou que a enterocoliteneocrosante está mais presente em unidades com maior taxa de mortalidade e se associa aos recém-nascidos de menor peso e à ocorrência de sepse tardia.

Como a incidência de ECN variou de 2,7% a 12,9% entre as unidades participantes, seria importante realizar um estudo prospectivo das práticas individuais de cada unidade com o objetivo de se reconhecerem os fatores que se relacionam com a maior ou menor ocorrência da doença.

Capítulo 3: Considerações finais

Este foi um estudo retrospectivo realizado em 17 unidades brasileiras de terapia intensiva neonatal reunindo um total de 8.307 pacientes nascidos entre janeiro de 2009 e dezembro de 2013, com peso de nascimento médio de 1.076g e idade gestacional de 29 semanas. O objetivo deste estudo foi descrever as características demográficas e os fatores de risco relacionados à enterocolitene necrosante, assim como descrever o impacto da doença na mortalidade da população geral.

Observou-se uma grande variabilidade na incidência de ECN nas diferentes UTIN participantes do estudo, com variação de 2,7% a 12,9%. Notou-se também que os principais fatores de risco para ECN nesta população foram peso de nascimento, Apgar de primeiro minuto e sepse tardia. Esses fatores de risco são tradicionalmente relacionados à ECN e são bem descritos na literatura.

Foi verificado também que a ECN tem um impacto significativo na mortalidade da população. Recém-nascidos que apresentaram ECN evoluíram com o dobro da mortalidade em relação aos que não tiveram a doença (40x20%). Na literatura, a mortalidade descrita relacionada à ECN é de 20% a 50%, podendo chegar a 100% nos casos mais graves. Esse fato reforça a grande importância de se estudar a ECN no contexto brasileiro.

A associação de ECN com óbito também ficou evidente quando comparamos a ocorrência de ECN por extrato de mortalidade, sendo 3,9% na categoria de menor mortalidade, 7% na categoria intermediária e 6,4% na

categoria de maior mortalidade. Essa associação provavelmente está relacionada às práticas individuais de cada serviço. Especulou-se também que a disponibilidade de recursos tecnológicos e humanos pode ter impacto na incidência de ECN, sendo responsável por essa variação.

Para um melhor entendimento das variações encontradas, seria importante realizar um estudo prospectivo das práticas individuais de cada unidade, com o objetivo de reconhecer os fatores que se relacionam com a maior ou menor ocorrência de enterocolite nessa população.

Referências bibliográficas

1. Howson CP, Kinney MV, McDougall L, Lawn JE, the Born Too Soon Preterm Birth Action Group. Born Too Soon: Preterm birth matters. *Reprod Health*. 2013;10(Suppl 1):S1.
2. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Walsh MC, Carlo WA, Shankaran S, et al. Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012. *JAMA*. 8 de setembro de 2015;314(10):1039.
3. Patel RM, Kandefer S, Walsh MC, Bell EF, Carlo WA, Laptook AR, et al. Causes and timing of death in extremely premature infants from 2000 through 2011. *N Engl J Med*. 22 de janeiro de 2015;372(4):331–40.
4. Srinivasan PS, Brandler MD, D'Souza A. Necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol*. março de 2008;35(1):251–272, x.
5. Ahle M, Drott P, Andersson RE. Epidemiology and trends of necrotizing enterocolitis in Sweden: 1987-2009. *Pediatrics*. agosto de 2013;132(2):e443-451.
6. Yee WH, Soraisham AS, Shah VS, Aziz K, Yoon W, Lee SK, et al. Incidence and timing of presentation of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Pediatrics*. fevereiro de 2012;129(2):e298-304.
7. Guthrie SO, Gordon PV, Thomas V, Thorp JA, Peabody J, Clark RH. Necrotizing enterocolitis among neonates in the United States. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. junho de 2003;23(4):278–85.
8. Hsueh W, Caplan MS, Qu X-W, Tan X-D, De Plaen IG, Gonzalez-Crussi F. Neonatal necrotizing enterocolitis: clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc*. fevereiro de 2003;6(1):6–23.
9. Llanos AR, Moss ME, Pinzón MC, Dye T, Sinkin RA, Kendig JW. Epidemiology of neonatal necrotising enterocolitis: a population-based study. *Paediatr Perinat Epidemiol*. outubro de 2002;16(4):342–9.
10. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Stark AR, et al. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol*. fevereiro de 2007;196(2):147.e1-8.
11. Fitzgibbons SC, Ching Y, Yu D, Carpenter J, Kenny M, Weldon C, et al. Mortality of necrotizing enterocolitis expressed by birth weight categories. *J Pediatr Surg*. junho de 2009;44(6):1072-1075-1076.
12. Berrington JE, Hearn RI, Bythell M, Wright C, Embleton ND. Deaths in preterm infants: changing pathology over 2 decades. *J Pediatr*. janeiro de 2012;160(1):49–53.e1.

13. Zhou P, Li Y, Ma L-Y, Lin H-C. The Role of Immunonutrients in the Prevention of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients*. 28 de agosto de 2015;7(9):7256–70.
14. Neu J, Mihatsch W. Recent developments in necrotizing enterocolitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. janeiro de 2012;36(1 Suppl):30S–5S.
15. Sharma R, Tepas JJ. Microecology, intestinal epithelial barrier and necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg Int*. janeiro de 2010;26(1):11–21.
16. <http://datasus.saude.gov.br/31/08/2016>.
17. <http://www.redeneonatal.fiocruz.br/31/08/2016>.
18. Boo N-Y, Cheah IGS. Risk factors associated with necrotising enterocolitis in very low birth weight infants in Malaysian neonatal intensive care units. *Singapore Med J*. dezembro de 2012;53(12):826–31.
19. Lambert DK, Christensen RD, Henry E, Besner GE, Baer VL, Wiedmeier SE, et al. Necrotizing enterocolitis in term neonates: data from a multihospital health-care system. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. julho de 2007;27(7):437–43.
20. Lambert DK, Christensen RD, Baer VL, Henry E, Gordon PV, Besner GE, et al. Fulminant necrotizing enterocolitis in a multihospital healthcare system. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. março de 2012;32(3):194–8.
21. Dominguez KM, Moss RL. Necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol*. junho de 2012;39(2):387–401.
22. Ganapathy V. Drugs of abuse and human placenta. *Life Sci*. maio de 2011;88(21–22):926–30.
23. Downard CD, Grant SN, Maki AC, Krupski MC, Matheson PJ, Bendon RW, et al. Maternal Cigarette Smoking and the Development of Necrotizing Enterocolitis. *PEDIATRICS*. 1 de julho de 2012;130(1):78–82.
24. Sood BG, Lulic-Botica M, Holzhausen KA, Pruder S, Kellogg H, Salari V, et al. The Risk of Necrotizing Enterocolitis After Indomethacin Tocolysis. *PEDIATRICS*. 1 de julho de 2011;128(1):e54–62.
25. Kamath-Rayne BD, Habli M, Rodriguez Z, Wu M, Gresh J, DeFranco EA. Antenatal exposure to sulindac and risk of necrotizing enterocolitis. *Am J Obstet Gynecol*. janeiro de 2015;212(1):96.e1-96.e7.
26. Bashiri A, Zmora E, Sheiner E, Hershkovitz R, Shoham-Vardi I, Mazor M. Maternal hypertensive disorders are an independent risk factor for the development of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Fetal Diagn Ther*. dezembro de 2003;18(6):404–7.

27. Cetinkaya M, Ozkan H, Koksal N. Maternal preeclampsia is associated with increased risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Early Hum Dev.* novembro de 2012;88(11):893–8.
28. Vieira AA, David BBL, Lino RRG, Duarte L de B, Bueno AC. [Evaluation of perinatal factors that influence the incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants]. *Rev Bras Ginecol E Obstetrícia Rev Fed Bras Soc Ginecol E Obstetrícia.* agosto de 2013;35(8):363–7.
29. García-Muñoz Rodrigo F, Galán Henríquez G, Figueras Aloy J, García-Alix Pérez A. Outcomes of Very-Low-Birth-Weight Infants Exposed to Maternal Clinical Chorioamnionitis: A Multicentre Study. *Neonatology.* 2014;106(3):229–34.
30. Ducey J, Owen A, Coombs R, Cohen M. Vasculitis as Part of the Fetal Response to Acute Chorioamnionitis Likely Plays a Role in the Development of Necrotizing Enterocolitis and Spontaneous Intestinal Perforation in Premature Neonates. *Eur J Pediatr Surg.* 12 de maio de 2014;25(3):284–91.
31. Been JV, Rours IGIJG, Kornelisse RF, Lima Passos V, Kramer BW, Schneider TAJ, et al. Histologic chorioamnionitis, fetal involvement, and antenatal steroids: effects on neonatal outcome in preterm infants. *Am J Obstet Gynecol.* dezembro de 2009;201(6):587.e1-587.e8.
32. Gane B, Bhat BV, Adhisivam B, Joy R, Prasadkumar P, Femitha P, et al. Risk Factors and Outcome in Neonatal Necrotising Enterocolitis. *Indian J Pediatr.* maio de 2014;81(5):425–8.
33. Manogura AC, Turan O, Kush ML, Berg C, Bhide A, Turan S, et al. Predictors of necrotizing enterocolitis in preterm growth-restricted neonates. *Am J Obstet Gynecol.* junho de 2008;198(6):638.e1-638.e5.
34. Young CM, Kingma SDK, Neu J. Ischemia-Reperfusion and Neonatal Intestinal Injury. *J Pediatr.* fevereiro de 2011;158(2):e25–8.
35. Chen Y, Chang KTE, Lian DWQ, Lu H, Roy S, Laksmi NK, et al. The role of ischemia in necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* [Internet]. janeiro de 2016 [citado 14 de maio de 2016]; Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022346815008404>
36. Fujii AM, Brown E, Mirochnick M, O'Brien S, Kaufman G. Neonatal necrotizing enterocolitis with intestinal perforation in extremely premature infants receiving early indomethacin treatment for patent ductus arteriosus. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* novembro de 2002;22(7):535–40.
37. McCurnin D, Clyman RI. Effects of a Patent Ductus Arteriosus on Postprandial Mesenteric Perfusion in Premature Baboons. *PEDIATRICS.* 1 de dezembro de 2008;122(6):e1262–7.

38. Fowlie PW, Davis PG, McGuire W. Prophylactic intravenous indomethacin for preventing mortality and morbidity in preterm infants. In: The Cochrane Collaboration, organizador. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2010 [citado 14 de maio de 2016]. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD000174.pub2>
39. Jones LJ, Craven PD, Attia J, Thakkinstian A, Wright I. Network meta-analysis of indomethacin versus ibuprofen versus placebo for PDA in preterm infants. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* 1 de janeiro de 2011;96(1):F45–52.
40. Mirea L, Sankaran K, Seshia M, Ohlsson A, Allen AC, Aziz K, et al. Treatment of Patent Ductus Arteriosus and Neonatal Mortality/Morbidities: Adjustment for Treatment Selection Bias. *J Pediatr.* outubro de 2012;161(4):689–694.e1.
41. Louis D, Torgalkar R, Shah J, Shah PS, Jain A. Enteral feeding during indomethacin treatment for patent ductus arteriosus: association with gastrointestinal outcomes. *J Perinatol* [Internet]. 25 de fevereiro de 2016 [citado 14 de maio de 2016]; Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/jp.2016.11>
42. Ramani M, Ambalavanan N. Feeding Practices and Necrotizing Enterocolitis. *Clin Perinatol.* março de 2013;40(1):1–10.
43. Good M, Sodhi CP, Hackam DJ. Evidence-based feeding strategies before and after the development of necrotizing enterocolitis. *Expert Rev Clin Immunol.* julho de 2014;10(7):875–84.
44. Kuschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(1):CD000343.
45. Boyd CA, Quigley MA, Brocklehurst P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* maio de 2007;92(3):F169-175.
46. Anderson DM, Kliegman RM. The relationship of neonatal alimentation practices to the occurrence of endemic necrotizing enterocolitis. *Am J Perinatol.* janeiro de 1991;8(1):62–7.
47. Kennedy KA, Tyson JE, Chamnanvanakij S. Rapid versus slow rate of advancement of feedings for promoting growth and preventing necrotizing enterocolitis in parenterally fed low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001241.
48. For the Brazilian Network on Neonatal Research, dos Santos AMN, Guinsburg R, de Almeida MFB, Procianoy RS, Marba STM, et al. Factors associated with red blood cell transfusions in very-low-birth-weight preterm infants in Brazilian neonatal units. *BMC Pediatr* [Internet]. dezembro de

- 2015 [citado 14 de maio de 2016];15(1). Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2431/15/113>
49. Patel RM, Knezevic A, Shenvi N, Hinkes M, Keene S, Roback JD, et al. Association of Red Blood Cell Transfusion, Anemia, and Necrotizing Enterocolitis in Very Low-Birth-Weight Infants. *JAMA*. 1 de março de 2016;315(9):889.
 50. Wan-Huen P, Bateman D, Shapiro DM, Parravicini E. Packed red blood cell transfusion is an independent risk factor for necrotizing enterocolitis in premature infants. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. outubro de 2013;33(10):786–90.
 51. Bailey SM, Hendricks-Muñoz KD, Mally PV. Variability in splanchnic tissue oxygenation during preterm red blood cell transfusion given for symptomatic anaemia may reveal a potential mechanism of transfusion-related acute gut injury. *Blood Transfus [Internet]*. 2015 [citado 14 de maio de 2016]; Available at: <http://www.bloodtransfusion.it/articolo.aspx?idart=002871&idriv=000103>
 52. Marin T, Josephson CD, Kosmetatos N, Higgins M, Moore JE. Feeding Preterm Infants during Red Blood Cell Transfusion Is Associated with a Decline in Postprandial Mesenteric Oxygenation. *J Pediatr*. setembro de 2014;165(3):464–471.e1.
 53. Sharma R, Kraemer DF, Torrazza RM, Mai V, Neu J, Shuster JJ, et al. Packed red blood cell transfusion is not associated with increased risk of necrotizing enterocolitis in premature infants. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. novembro de 2014;34(11):858–62.
 54. Neu J, Walker WA. Necrotizing Enterocolitis. *N Engl J Med*. 20 de janeiro de 2011;364(3):255–64.
 55. Bhandari V, Bizzarro MJ, Shetty A, Zhong X, Page GP, Zhang H, et al. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. *Pediatrics*. junho de 2006;117(6):1901–6.
 56. Guillet R, Stoll BJ, Cotten CM, Gantz M, McDonald S, Poole WK, et al. Association of H2-blocker therapy and higher incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*. fevereiro de 2006;117(2):e137-142.
 57. La Rosa PS, Warner BB, Zhou Y, Weinstock GM, Sodergren E, Hall-Moore CM, et al. Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proc Natl Acad Sci*. 26 de agosto de 2014;111(34):12522–7.
 58. Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Petrof EO, Sun J, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J*. agosto de 2009;3(8):944–54.

59. Arboleya S, Sánchez B, Solís G, Fernández N, Suárez M, Hernández-Barranco A, et al. Impact of Prematurity and Perinatal Antibiotics on the Developing Intestinal Microbiota: A Functional Inference Study. *Int J Mol Sci.* 29 de abril de 2016;17(5):649.
60. Arboleya S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *J Pediatr.* março de 2015;166(3):538–44.
61. Morowitz MJ, Poroyko V, Caplan M, Alverdy J, Liu DC. Redefining the Role of Intestinal Microbes in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *PEDIATRICS.* 1 de abril de 2010;125(4):777–85.
62. Shah P, Nathan E, Doherty D, Patole S. Prolonged exposure to antibiotics and its associations in extremely preterm neonates - the Western Australian experience. *J Matern Fetal Neonatal Med.* novembro de 2013;26(17):1710–4.
63. Alexander VN, Northrup V, Bizzarro MJ. Antibiotic Exposure in the Newborn Intensive Care Unit and the Risk of Necrotizing Enterocolitis. *J Pediatr.* setembro de 2011;159(3):392–7.
64. Heida FH, van Zoonen AGJF, Hulscher JBF, te Kiefte BJC, Wessels R, Kooi EMW, et al. A Necrotizing Enterocolitis-Associated Gut Microbiota Is Present in the Meconium: Results of a Prospective Study. *Clin Infect Dis.* 1 de abril de 2016;62(7):863–70.
65. Reber KM, Nankervis CA, Nowicki PT. Newborn intestinal circulation. Physiology and pathophysiology. *Clin Perinatol.* março de 2002;29(1):23–39.
66. Nanthakumar N, Meng D, Goldstein AM, Zhu W, Lu L, Uauy R, et al. The mechanism of excessive intestinal inflammation in necrotizing enterocolitis: an immature innate immune response. *PloS One.* 2011;6(3):e17776.
67. Nanthakumar NN, Fusunyan RD, Sanderson I, Walker WA. Inflammation in the developing human intestine: A possible pathophysiologic contribution to necrotizing enterocolitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 23 de maio de 2000;97(11):6043–8.
68. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet Lond Engl.* 12 de maio de 2007;369(9573):1614–20.
69. Olsen R, Greisen G, Schröder M, Brok J. Prophylactic Probiotics for Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Neonatology.* 2 de dezembro de 2015;109(2):105–12.
70. on behalf of the Italian Society of Neonatology, Aceti A, Gori D, Barone G, Callegari ML, Di Mauro A, et al. Probiotics for prevention of necrotizing

enterocolitis in preterm infants: systematic review and meta-analysis. *Ital J Pediatr* [Internet]. dezembro de 2015 [citado 15 de maio de 2016];41(1). Available at: <http://www.ijponline.net/content/41/1/89>

71. Garland SM, Tobin JM, Pirotta M, Tabrizi SN, Opie G, Donath S, et al. The ProPrems trial: investigating the effects of probiotics on late onset sepsis in very preterm infants. *BMC Infect Dis*. 2011;11(1):210.
72. Dilli D, Aydin B, Fettah ND, Özyazıcı E, Beken S, Zenciroğlu A, et al. The pro-pre-save study: effects of probiotics and prebiotics alone or combined on necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Pediatr*. março de 2015;166(3):545–551.e1.
73. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics*. maio de 2010;125(5):921–30.
74. Brecht M, Garg A, Longstaff K, Cooper C, Andersen C. Lactobacillus Sepsis following a Laparotomy in a Preterm Infant: A Note of Caution. *Neonatology*. 2016;109(3):186–9.
75. Dani C, Coviello C C, Corsini I I, Arena F, Antonelli A, Rossolini G. Lactobacillus Sepsis and Probiotic Therapy in Newborns: Two New Cases and Literature Review. *Am J Perinatol Rep*. 28 de outubro de 2015;6(1):e25–9.
76. Gordon PV, Clark R, Swanson JR, Spitzer A. Can a national dataset generate a nomogram for necrotizing enterocolitis onset? *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. outubro de 2014;34(10):732–5.
77. Sharma R, Hudak ML. A clinical perspective of necrotizing enterocolitis: past, present, and future. *Clin Perinatol*. março de 2013;40(1):27–51.
78. Srinivasan P, Brandler M, D'Souza A, Millman P, Moreau H. Allergic enterocolitis presenting as recurrent necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. junho de 2010;30(6):431–3.
79. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*. janeiro de 1978;187(1):1–7.
80. Musemeche CA, Kosloske AM, Ricketts RR. Enterostomy in necrotizing enterocolitis: an analysis of techniques and timing of closure. *J Pediatr Surg*. junho de 1987;22(6):479–83.
81. Weber TR, Tracy TF, Silen ML, Powell MA. Enterostomy and its closure in newborns. *Arch Surg Chic Ill 1960*. maio de 1995;130(5):534–7.
82. Blakely ML, Tyson JE, Lally KP, McDonald S, Stoll BJ, Stevenson DK, et al. Laparotomy versus peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis or

- isolated intestinal perforation in extremely low birth weight infants: outcomes through 18 months adjusted age. *Pediatrics*. abril de 2006;117(4):e680-687.
83. Moss RL, Dimmitt RA, Barnhart DC, Sylvester KG, Brown RL, Powell DM, et al. Laparotomy versus peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis and perforation. *N Engl J Med*. 25 de maio de 2006;354(21):2225–34.
 84. Rees CM, Eaton S, Kiely EM, Wade AM, McHugh K, Pierro A. Peritoneal drainage or laparotomy for neonatal bowel perforation? A randomized controlled trial. *Ann Surg*. julho de 2008;248(1):44–51.
 85. Stey A, Barnert ES, Tseng C-H, Keeler E, Needleman J, Leng M, et al. Outcomes and Costs of Surgical Treatments of Necrotizing Enterocolitis. *PEDIATRICS*. 1 de maio de 2015;135(5):e1190–7.
 86. Guner YS, Friedlich P, Wee CP, Dorey F, Camerini V, Upperman JS. State-based analysis of necrotizing enterocolitis outcomes. *J Surg Res*. novembro de 2009;157(1):21–9.
 87. Abdullah F, Zhang Y, Camp M, Mukherjee D, Gabre-Kidan A, Colombani PM, et al. Necrotizing enterocolitis in 20,822 infants: analysis of medical and surgical treatments. *Clin Pediatr (Phila)*. fevereiro de 2010;49(2):166–71.
 88. Wadhawan R, Oh W, Hintz SR, Blakely ML, Das A, Bell EF, et al. Neurodevelopmental outcomes of extremely low birth weight infants with spontaneous intestinal perforation or surgical necrotizing enterocolitis. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. janeiro de 2014;34(1):64–70.
 89. Manuck TA, Rice MM, Bailit JL, Grobman WA, Reddy UM, Wapner RJ, et al. Preterm neonatal morbidity and mortality by gestational age: a contemporary cohort. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. janeiro de 2016 [citado 12 de maio de 2016]; Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937816000065>
 90. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. Neonatal Outcomes of Extremely Preterm Infants From the NICHD Neonatal Research Network. *PEDIATRICS*. 1 de setembro de 2010;126(3):443–56.
 91. Kusuda S, Fujimura M, Uchiyama A, Totsu S, Matsunami K. Trends in morbidity and mortality among very-low-birth-weight infants from 2003 to 2008 in Japan. *Pediatr Res*. novembro de 2012;72(5):531–8.
 92. Dollberg S, Lusky A, Reichman B. Patent ductus arteriosus, indomethacin and necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: a population-based study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. fevereiro de 2005;40(2):184–8.
 93. Gagliardi L, Bellù R, Cardilli V, De Curtis M, Network Neonatale Lombardo. Necrotising enterocolitis in very low birth weight infants in Italy: incidence

and non-nutritional risk factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* agosto de 2008;47(2):206–10.

94. Youn YA, Kim E-K, Kim SY. Necrotizing Enterocolitis among Very-Low-Birth-Weight Infants in Korea. *J Korean Med Sci.* outubro de 2015;30 Suppl 1:S75-80.
95. Clyman RI, Wickremasinghe A, Merritt TA, Solomon T, McNamara P, Jain A, et al. Hypotension following Patent Ductus Arteriosus Ligation: The Role of Adrenal Hormones. *J Pediatr.* junho de 2014;164(6):1449–1455.e1.
96. EL-Khuffash AF, Jain A, Weisz D, Mertens L, McNamara PJ. Assessment and Treatment of Post Patent Ductus Arteriosus Ligation Syndrome. *J Pediatr.* julho de 2014;165(1):46–52.e1.
97. Bisquera JA, Cooper TR, Berseth CL. Impact of Necrotizing Enterocolitis on Length of Stay and Hospital Charges in Very Low Birth Weight Infants. *PEDIATRICS.* 1 de março de 2002;109(3):423–8.
98. Schwab F, Zibell R, Piening B, Geffers C, Gastmeier P. Mortality Due to Bloodstream Infections and Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Infants: *Pediatr Infect Dis J.* março de 2015;34(3):235–40.
99. Hossain S, Shah PS, Ye XY, Darlow BA, Lee SK, Lui K, et al. Outcome comparison of very preterm infants cared for in the neonatal intensive care units in Australia and New Zealand and in Canada: Outcome comparison of preterm infants. *J Paediatr Child Health.* setembro de 2015;51(9):881–8.