



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

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS ADITIVOS DE LEITE HUMANO
PARA PREMATUROS COM PESO DE NASCIMENTO \leq 1500 G
OU IDADE GESTACIONAL \leq 34 SEMANAS: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

Fernanda Niskier Cukier

**Rio de Janeiro
Abril de 2014**



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

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS ADITIVOS DE LEITE HUMANO
PARA PREMATUROS COM PESO DE NASCIMENTO \leq 1500 G
OU IDADE GESTACIONAL \leq 34 SEMANAS: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

Fernanda Niskier Cukier

**Rio de Janeiro
Abril de 2014**



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

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS ADITIVOS DE LEITE HUMANO
PARA PREMATUROS COM PESO DE NASCIMENTO \leq 1500 G
OU IDADE GESTACIONAL \leq 34 SEMANAS: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

Fernanda Niskier Cukier

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

Orientadora: Dra. Maria Elizabeth Lopes Moreira

Co-orientadora: Dra. Marcia Teixeira Pinto

**Rio de Janeiro
Abril de 2014**

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

C966e **Cukier, Fernanda Niskier.**

Eficácia e segurança dos aditivos de leite humano para prematuros com peso de nascimento ≤ 1500 g ou idade gestacional ≤ 34 semanas: **uma revisão sistemática com metaanálise.** / Fernanda Niskier Cukier. - Rio de Janeiro, 2014. xvii, 164 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e da Mulher) – Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro, RJ, 2014.

Orientadora: Maria Elisabeth Lopes Moreira

Coorientadora: Márcia Teixeira Pinto

Bibliografia: f. 149-155

1. Leite Humano. 2. Suplementos Dietéticos. 3. Prematuro. 4. Aditivo de Leite Humano. 5. Leite Humano Fortificado. I. Título.

CDD 22. ed. 649.33

Dedicatória

Uma das situações que mais me tocam enquanto médica pediatra é a de uma mãe observando seu filho prematuro dentro de uma incubadora. Esta visão me transmite sensações de impotência e passividade que acredito serem extremamente difíceis de lidar. Dedico meu projeto de mestrado a todas as mães de prematuros extremos, pois neste início de vida tão diferente, uma estratégia que leve ao aumento do incentivo ao aleitamento materno dentro das UTIs pode ser reconfortante para elas. O aleitamento materno pode contribuir para expiar suas culpas, diminuir suas dores e torná-las ativas e fundamentais no cuidado e na recuperação de seus filhos.

Agradecimentos

Agradeço a meu marido Michel por seu apoio e amor incondicional.

Aos meus filhos Felipe e Marina, por sua paciência e compreensão, mesmo que parcial, dos momentos que deixamos de ficar juntos.

À minha orientadora Maria Elisabeth Lopes Moreira, por sua cooperação e competência, sem ela não teria chegado até aqui.

À minha co-orientadora Marcia Teixeira Pinto, por sua enorme ajuda e generosidade sem fim.

A Saint-Clair Gomes, essencial, obrigada pela disposição em me ajudar tanto.

Aos Doutores Andrea Zyn e Arnaldo Bueno que se prontificaram a participar desta banca.

Agradeço ainda, e especialmente, a todos os professores da pós-graduação que ampliaram meu olhar sobre a saúde, tanto em nível coletivo, como individual, grande contribuição para a médica e para a pesquisadora da área de saúde coletiva. E também aos meus colegas de mestrado, que com suas diferentes vivências pessoais e profissionais enriqueceram muito minha trajetória. Não posso esquecer todos os funcionários da secretaria sempre prontos a resolver nossos problemas.

Por fim, agradeço do fundo do coração à médica e amiga Leticia Villela, importante desde o início de minha formação como pediatra, e indispensável para a elaboração desta pesquisa.

Fernanda Niskier Cukier

Abril de 2014

Lista de Siglas

BLH: banco de leite humano

ECN: enterocolite necrosante

FP: fórmula para prematuro

IG: idade gestacional

IGC: idade gestacional corrigida

Kg: Quilograma

LH: leite humano

LHO: leite humano ordenhado

LHOF: leite humano ordenhado fortificado (suplementado com aditivo multicomponente)

LHOP: leite humano ordenhado pasteurizado (de banco de leite humano)

PC: perímetro cefálico

PN: peso de nascimento

RN: recém-nascidos

RR: risco relativo

SUS: Sistema Único de Saúde

UTI: Unidades de Terapia Intensiva

Lista de figuras

Figura 1 - Fluxo de trabalho no Banco de Leite Humano. Adaptado do manual da ANVISA	33
Figura 2 - Seleção de estudos: baseado no fluxograma PRISMA.....	44

Lista de tabelas

Tabela 1 – Resultado de metanálises anteriores	29
Tabela 2 – Produção de Leite Humano de 1998 a 2012	32
Tabela 3- Comparação 1: Composição dos aditivos de leite humano. 47	
Tabela 4- Comparação 1: Característica dos estudos incluídos.	54
Tabela 6- Comparação 1: Resultado da metanálise comparando LH suplementado com aditivos ao LH puro	66
Tabela 7- Comparação 1: Resultado da metanálise comparando LH suplementado com aditivos ao LH puro, análise de sensibilidade	67
Tabela 8 – Comparação 2: Composição dos aditivos de leite humano	86
Tabela 9 – Comparação 2: Composição de 100ml de fórmula para prematuro	87
Tabela 10 – Comparação 2: Característica dos estudos incluídos.....	89
Tabela 11- Comparação 2: Resultado da metanálise comparando LH suplementado com aditivos à fórmula para prematuros	98
Tabela 12 - Comparação 3: Composição dos aditivos de leite humano (aditivo em apresentação líquida x aditivos em pó)	118
Tabela 13 - Comparação 3: Composição dos aditivos de leite humano (aditivos em pó)	120
Tabela 14- Comparação 3: Qualidade metodológica dos estudos incluídos.....	123
Tabela 15 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes	132

Lista de quadros

Quadro 1- Questão Estruturada no Formato PICO	36
Quadro 2- Palavras chaves	36
Quadro 3 – Estratégia de Busca para Pubmed.....	37

Lista de Gráficos

Gráfico 1 – Comparação 1: Taxa de Ganho de Peso (g/Kg/dia)	68
Gráfico 2 - Comparação 1: Taxa de Ganho de Peso (g/dia)	69
Gráfico 3 – Comparação 1: Taxa de Crescimento Linear (cm/sem)....	70
Gráfico 4 – Comparação 1: Taxa de Crescimento do Perímetro Cefálico (cm/sem)	71
Gráfico 5 – Comparação 1: Níveis Séricos de Cálcio (mg/dl)	72
Gráfico 6 – Comparação 1: Níveis Séricos de Fósforo (mg/dl)	73
Gráfico 7– Comparação 1: Níveis Séricos de Fosfatase Alcalina (UI/l) 74	74
Gráfico 8 - Comparação 1: Risco de Enterocolite Necrosante	75
Gráfico 9 - Comparação 1 – Análise de Sensibilidade, Taxa de Ganho de Peso (g/Kg/dia)	76
Gráfico 10 - Comparação 1 – Análise de Sensibilidade, Taxa de Crescimento Linear (cm/sem)	77
Gráfico 11 - Comparação 1 – Análise de Sensibilidade, Taxa de crescimento do Perímetro Cefálico (cm/sem).....	78
Gráfico 12 - Comparação 1 – Análise de Sensibilidade, Níveis séricos de Cálcio (mg/dl).....	79
Gráfico 13 - Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Níveis Séricos de Fósforo (mg/dl).....	80
Gráfico 14 - Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Níveis Séricos de Fosfatase Alcalina (UI/l)	81
Gráfico 15 - Comparação 1 – Análise de Sensibilidade, Risco de Enterocolite Necrosante.....	82
Gráfico 16- Comparação 2: Taxa de Ganho de Peso (g/Kg/dia)	99

Gráfico 17- Comparação 2: Taxa de Crescimento Linear (cm/sem) ..	100
Gráfico 18 - Comparação 2: Taxa de Crescimento de Perímetro Cefálico (cm/sem)	101
Gráfico 19 – Comparação 2: Níveis Séricos de Cálcio (mg/dl)	102
Gráfico 20 – Comparação 2: Níveis Séricos de Fósforo (mg/dl)	103
Gráfico 21 – Comparação 2: Níveis Séricos de Fosfatase Alcalina (UI/L)	104
Gráfico 22 – Comparação 2: Risco de Enterocolite Necrosante	105

RESUMO

Introdução: Os aditivos multicomponentes foram desenvolvidos com o objetivo de adequar o aporte de nutrientes do leite humano (LH) oferecido aos prematuros. São compostos por diferentes combinações de proteína, carboidrato, gordura e/ou minerais, em apresentação líquida ou em pó.

Objetivos: Avaliar eficácia e segurança dos aditivos multicomponentes, utilizados como suplemento ao LH, em prematuros com peso de nascimento (PN) \leq 1500 g ou com idade gestacional (IG) de nascimento \leq 34 semanas. Comparar o LH suplementado com aditivos ao LH puro ou à fórmula para prematuros (FP) e comparar diferentes aditivos entre si.

Métodos: Foi realizada uma Revisão Sistemática da Literatura com Metanálise, via estratégia de busca estruturada, nos bancos de dados *The Cochrane Library*, Pubmed, EMBASE, SCOPUS, Scielo e Lilacs, anais de congressos, listas de referências dos artigos identificados e artigos de revisão relevantes. Buscaram-se metanálises, revisões sistemáticas ou ensaios clínicos controlados (preferencialmente randomizados) que comparassem o LH suplementado com aditivos multicomponentes ao LH puro, à FP ou a outros aditivos e que preenchessem critérios de qualidade PRISMA. Os desfechos avaliados foram peso, crescimento linear e perímetro cefálico em curto e longo prazo, desenvolvimento, enterocolite necrosante (ECN), óbito e níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina. A síntese dos resultados foi apresentada como diferença de média e risco relativo (RR).

Resultados: O LH suplementado com aditivo multicomponente levou a maiores taxas de crescimento em curto prazo que o LH puro, sem evidência de aumento no risco de ECN. Não foi demonstrado efeito nos níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina. Na comparação entre LH suplementado com aditivo e FP não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nas taxas de ganho de peso e de aumento de perímetro cefálico. O crescimento linear foi maior nos prematuros alimentados com FP. Os níveis séricos de cálcio e fosfatase alcalina foram maiores e os de fósforo menores no grupo alimentado com LH suplementado com aditivos, porém os valores encontravam-se dentro da normalidade nos dois grupos na maioria dos estudos. Não houve diferença no risco de ECN. Crescimento em longo prazo, desenvolvimento e óbito não puderam ser avaliados em nenhuma das comparações. Na comparação entre diferentes aditivos foi realizada apenas uma revisão sistemática da literatura, que demonstrou que todos os aditivos multicomponentes levaram a taxas de crescimento satisfatório, com tendência a maior crescimento com os aditivos de maior conteúdo proteico. O risco de ECN foi baixo em todos os estudos e os níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina foram normais na maioria, independente do aditivo utilizado.

Conclusão: A fortificação do LH com aditivos multicomponentes está associada à melhora nos parâmetros de crescimento em curto prazo, comparável ao crescimento observado por prematuros alimentados com FP. Os aditivos são seguros e não há evidência de que levem a maior incidência de ECN ou de doença óssea metabólica. A composição ideal dos aditivos ainda precisa ser determinada por mais estudos.

Palavras chaves: Leite humano, Suplementos dietéticos, Prematuro, Aditivo de leite humano, leite humano fortificado.

ABSTRACT

Introduction: The multicomponent fortifiers have been developed to allow an appropriate nutrient intake by premature infants receiving human milk. They are composed by different combinations of protein, carbohydrates, fat and minerals, in liquid or powder presentation. **Objectives:** To evaluate efficacy and safety of human milk multicomponent fortifiers in premature infants with birth weight ≤ 1500 g or gestational age at birth ≤ 34 weeks. To compare fortified human milk to plain human milk, to preterm formulas or to a different fortified human milk. **Methods:** A systematic literature review with meta-analysis was performed. Searches were made at The Cochrane Library, Pubmed, EMBASE, SCOPUS, Scielo, Lilacs, previous reviews including cross references, abstracts of scientific events and journal hand searching. We searched for meta-analysis, systematic reviews and controlled trials (especially those with random allocation of patients) comparing fortified human milk with plain human milk, premature formula or different fortifiers that fulfilled the PRISMA checklist. The outcomes studied were: growth in short and long term (weight, linear growth and head circumference), necrotizing enterocolitis (NEC), death and serum calcium, phosphorus and alkaline phosphatase. Synthesis of data was conducted by relative risk and weighted mean difference. **Results:** Fortified human milk led to higher growth rates in the short term compared with plain human milk, without evidence of increased risk of NEC. There was no effect on serum levels of calcium, phosphorus and alkaline phosphatase. Fortified human milk led to similar rates of weight gain and increase in head circumference compared to preterm formulas. Linear growth was higher in those fed by preterm formula. Serum calcium and alkaline phosphatase were higher and serum phosphorus was lower in those patients receiving fortified human milk, but the values were within the normal range in both groups in most studies. There was no difference in the risk of NEC. Long-term growth, development and death could not be evaluated in either comparison. We only performed a systematic review for the comparison of different fortifiers. This review showed that all multicomponent fortifiers led to satisfactory growth rates, with a tendency of better growth with the fortifiers with higher protein content. There was a low risk of NEC in all studies. Serum levels of calcium, phosphorus and alkaline phosphatase were normal in most studies, no matter which fortifier was used. **Conclusion:** The use of fortified human milk by premature infants is associated with better weight gain, linear growth and increase in head circumference in the short term, comparable to the rates of growth observed in preterm infants fed formula. The fortifiers are safe and do not increase the risk of NEC or lead to a higher incidence of rickets. The ideal composition of fortifiers still needs to be determined by further studies. *Milk, Human; Dietary Supplements; Infant, premature; Fortified human milk.*

Epigrafe

*“Gastei uma hora pensando um verso
que a pena não quer escrever.
No entanto ele está cá dentro
inquieta, vivo.
Ele está cá dentro
e não quer sair.
Mas a poesia deste momento
inunda minha vida inteira.”*

Carlos Drummond de Andrade

Sumário

1. Introdução	18
2. Justificativa	21
3. Objetivos	25
3.1 Objetivo geral	25
3.2. Objetivos Específicos	25
4. Referencial Teórico	26
4.1. Leite Humano para prematuros de muito baixo peso ao nascer	26
4.2. Aditivos de Leite Humano	28
4.3. O Funcionamento do Banco de Leite Humano	30
5. Métodos.....	36
5.1 Estratégia de Busca	36
5.1.1 Questão de Pesquisa	36
5.1.2 Elaboração da Estratégia de Busca.....	36
5.2 Critérios de Elegibilidade.....	37
5.2.1 População	37
5.2.2 Intervenção.....	38
5.2.3 Comparações	39
5.2.4 Desfechos	39
5.2.5 Tipos de estudo	40

5.3 Extração, Tabulação e Análise dos Dados	41
6. Resultados	43
6.1 Tabulação e Análise dos dados	43
6.2 Comparação 1– Leite humano suplementado com aditivo multicomponente x Leite humano puro	45
6.2.1 Descrição dos estudos:	45
6.2.2 Risco de viés nos estudos incluídos	49
6.2.3 Efeitos da Intervenção	52
6.2.4 Conclusão	64
6.2.5 Gráficos de metanálise	68
6.3 Comparação 2: Leite humano suplementado com aditivo multicomponente x Fórmula para prematuro	83
6.3.1 Descrição dos estudos:	83
6.3.2 Risco de viés nos estudos incluídos	85
6.3.3 Efeitos da Intervenção	93
6.3.4 Conclusão	96
6.3.5 Gráficos de Metanálise	99
6.4 Comparação 3: Diferentes aditivos entre si.....	106
6.4.1 Descrição dos estudos:	106
6.4.2 Risco de viés nos estudos incluídos	117
6.4.3 Efeitos da Intervenção	125
6.4.4 Conclusão	141

7. Discussão.....	142
9. Referências Bibliográficas	149
Apêndice 1- Formulário de extração de dados	156
Apêndice 2 – Estudos avaliados na íntegra e excluídos	157
Apendice 3–Cronograma.....	159
Anexo 1 – PRISMA 2009 Check list.....	160

1. Introdução

Segundo dados oficiais do governo, no ano de 2011, houve 2.913.160 nascidos vivos no Brasil, dos quais 285.592 (9,8%) foram nascimentos prematuros (antes de 37 semanas de idade gestacional). Entre os recém-nascidos (RNs) pré-termo, 38.590 foram menores de 1500 g (prematuros de muito baixo peso ao nascer), o que corresponde a 13,51% dos prematuros e 1,32% do total de nascidos vivos. (1)

Nos últimos 20 anos a taxa de mortalidade dos prematuros de muito baixo peso diminuiu (2,3), entretanto, as taxas de desnutrição pós-natal continuam elevadas. (2–4) O estudo de Gianini e colaboradores(4), que analisou 200 prematuros de muito baixo peso ao nascer, encontrou taxa de desnutrição pós-natal de 63,5% no termo. Um estudo mais recente com 570 prematuros, publicado por Lima e colaboradores(5), demonstrou 26% de desnutrição pós-natal no termo.

O objetivo da nutrição de prematuros deve ser atingir velocidade de crescimento extrauterina semelhante ao crescimento intrauterino (aproximadamente 15 gramas/Kg/dia) (6), o que está associado a melhores desfechos motores e neurocognitivos em longo prazo. (3,7)

O leite materno é o melhor alimento para RN a termo, porém, seu papel na alimentação de prematuros ainda é controverso, uma vez que leva a menores taxas de crescimento (6,8–12), o que pode levar a consequências negativas para o desenvolvimento motor e cerebral. (3,7) Apesar disso, é considerado como primeira opção para dieta dos prematuros de muito baixo peso ao nascer. Entre as vantagens destacam-se o menor risco de enterocolite

necrosante (ECN) (6,13), menor tempo de nutrição parenteral e hospitalização (6), além de diminuir o risco da síndrome metabólica na vida adulta. (7,14–18)

Nem sempre se dispõe de leite materno em quantidades suficientes para o prematuro de muito baixo peso, nestes casos utiliza-se preferencialmente o leite humano ordenhado e pasteurizado (LHOP) doado por voluntárias saudáveis.

Algumas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) neonatais não dispõem de BLH ou de LHOP para atender a todos os prematuros que dele necessitam. Nestes casos, os bebês são alimentados com fórmulas para prematuro. Apesar das fórmulas levarem a uma taxa de crescimento satisfatória, mais próxima ao crescimento intrauterino, esses bebês apresentam maior incidência de ECN, além de não se beneficiarem das vantagens não nutricionais do leite materno (13,19), incluindo a melhora do vínculo mãe–bebê, tão importante de ser reforçado nos prematuros, especialmente nos de muito baixo peso ao nascer, que ficam por longos períodos separados de suas mães.

Já o LHOP, apesar de manter parte dos benefícios do leite humano (LH) cru (6,13), leva a ganhos de peso ligeiramente menores. (20) Isso porque geralmente as doadoras são mães de bebês a termo, e o conteúdo nutricional do seu leite é menor que o do leite de mães de prematuros (20) e também porque o processamento do leite pode comprometer ainda mais sua qualidade nutricional.(19,20)

Com o objetivo principal de adequar o aporte de nutrientes aos RNs prematuros, diversos estudos ao longo do tempo avaliaram a eficácia e a segurança da suplementação do leite materno, seja ele cru da própria mãe ou LHOP, com minerais, proteína, gordura ou carboidratos, isolados ou

combinados, na alimentação de prematuros. Até o momento existe uma metanálise publicada pela Colaboração Cochrane que demonstra evidências de que os aditivos multicomponentes determinem maior ganho de peso em curto prazo comparado à utilização de LH puro (8). Atualmente, a Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano (BLH) não faz nenhuma recomendação formal à sua utilização de rotina nas UTIs neonatais.

2. Justificativa

O leite materno é o melhor alimento para RN a termo, pois além de seus benefícios nutricionais, contribui para a imunidade e maturação gastrointestinal e melhora a interação mãe bebê, entre outras vantagens. (13,21) Entretanto, seu papel na alimentação de prematuros é menos definido. (6,8–12,21)

Os prematuros de muito baixo peso ao nascer alimentados com (LH) apresentam menor ganho de peso quando comparado àqueles alimentados com fórmulas para prematuros (6,8–12,21), sendo que a utilização de LHOP costuma levar a taxas de crescimento ligeiramente menores. (20)

Numerosos estudos investigaram o impacto negativo da desnutrição no período neonatal no desenvolvimento neurocognitivo. (7) Já se sabe que, em idade escolar, os prematuros de muito baixo peso são menores, mais leves e tem menor perímetro cefálico (PC) que seus pares, e acredita-se que menores PCs sejam preditores de piores desfechos motor e acadêmico. (3,22) Um ensaio clínico, de Tan e colaboradores (3), avaliou RN menores de 29 semanas de idade gestacional (IG) e demonstrou, via medidas de PC e avaliação de ressonâncias magnéticas de crânio, que abordagens nutricionais mais agressivas podem promover o crescimento cerebral, com impacto positivo no desenvolvimento destes bebês aos 12 meses de vida. (3) Outro estudo, de Ehrenkranz e colaboradores, demonstrou que prematuros com maior aporte energético nas primeiras semanas de vida apresentaram melhores desfechos em termos de neurodesenvolvimento aos 18 a 22 meses de idade gestacional corrigida (IGC). (22)

O leite materno apresenta quantidades insuficientes de cálcio e fósforo para o prematuro, o que leva a desmineralização óssea, raquitismo metabólica, risco de fraturas e menores taxas de crescimento linear. (9,21)

Apesar disso, já foram descritas vantagens da sua utilização, como redução de ECN durante a hospitalização (6,13), menor tempo para esvaziamento gástrico, menor tempo para atingir dieta plena e a presença de fatores que estimulam crescimento, motilidade e maturação do trato gastrointestinal, o que leva a benefícios adicionais como menos dias de acesso venoso e nutrição parenteral e de suas complicações e menor tempo e custo de internação hospitalar. (6,20,22) Acredita-se ainda que a utilização de LH tenha capacidade de “programar” a saúde do indivíduo em longo prazo, com redução de obesidade, *diabetes mellitus*, hipertensão e hipercolesterolemia (7,14–18), o que torna a nutrição no período neonatal um tópico importante na área da saúde coletiva e no planejamento das políticas de saúde. (4)

Como então contrabalançar os enormes benefícios do LH para esta população com os riscos da desnutrição pós-natal e com as desvantagens da utilização das fórmulas em prematuros?

Os aditivos de LH foram desenvolvidos como uma estratégia para adequar o leite materno à necessidade nutricional destes bebês. Ou seja, atingir velocidades de crescimento extrauterina semelhantes ao crescimento do feto de mesma IG, diminuindo as taxas de desnutrição pós-natal, mas mantendo as vantagens não nutricionais da utilização do LH.

Comparado ao LH puro, até o momento, há evidências de benefício relacionado ao ganho de peso em curto prazo e ao aumento do comprimento e PC apenas para a suplementação com proteínas ou fórmulas

multicomponentes, sem aumento na incidência de ECN ou piora da tolerância gastrointestinal. (8,10) Ainda não foi demonstrado o efeito destes suplementos na mineralização óssea, no crescimento em longo prazo e no desenvolvimento neuropsicomotor (8–12), além de que não se conhecem as consequências em longo prazo da sua utilização de rotina. Diversos estudos vêm sendo publicados com o objetivo de comparar a utilização de LH suplementado com aditivos multicomponentes com FP, tanto em relação ao crescimento, quanto à frequência de doença óssea metabólica e à segurança das duas estratégias. Além disso, a comunidade científica tenta determinar, via ensaios clínicos controlados, o aditivo multicomponente ideal.

A Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano é das maiores e mais importantes do mundo, mas pelas incertezas acerca das vantagens e desvantagens, não faz nenhuma recomendação formal à utilização ou não dos aditivos de LH. Segundo o manual da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - “Banco de Leite Humano: Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos” - os aditivos podem ser utilizados em condições excepcionais, por prescrição médica, em ambiente hospitalar. Entretanto, este manual ressalta que os aditivos podem alterar a osmolaridade do leite, reduzindo a qualidade de absorção de seus constituintes e aumentando o risco de infecção por contaminação secundária à manipulação do pó. Além disso, não especifica, em caso de utilização, qual aditivo deve ser prescrito. (19) Como alternativa para diminuir o risco de contaminação, foram desenvolvidos aditivos em apresentação líquida, que apresentam como desvantagem o fato de diluírem o LH e com isso diminuir a concentração de fatores de defesa e de componentes bioativos no leite. (23,24)

Pelo exposto, torna-se importante que seja elaborada pelo Ministério da Saúde uma diretriz baseada nas melhores evidências científicas disponíveis, com o objetivo de nortear a utilização dos diferentes aditivos disponíveis no mercado pelos pacientes acompanhados no SUS ou no Sistema Suplementar de Saúde.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Realizar uma revisão sistemática da literatura com metanálise sobre a eficácia e segurança dos aditivos multicomponentes, utilizados na suplementação do LH, para prematuros de muito baixo peso ao nascer (≤ 1500 g) ou com IG de nascimento ≤ 34 semanas, como forma de auxiliar a elaboração de protocolos e diretrizes de tratamento.

3.2. Objetivos Específicos

-Comparar o LH suplementado com aditivos multicomponentes ao LH puro, na alimentação de prematuros com peso de nascimento (PN) ≤ 1500 g ou IG de nascimento ≤ 34 semanas (Comparação 1);

-Comparar o LH suplementado com aditivos multicomponentes à fórmula para prematuro (FP), na alimentação de prematuros com PN ≤ 1500 g ou IG de nascimento ≤ 34 semanas (Comparação 2);

- Comparar os diferentes aditivos entre sina alimentação de prematuros com PN ≤ 1500 g ou IG de nascimento ≤ 34 semanas (Comparação 3).

4. Referencial Teórico

4.1. Leite Humano para prematuros de muito baixo peso ao nascer

O LH reúne em sua composição mais de 250 substâncias dispostas em três partes. A fração emulsão contém lipídios e componentes lipossolúveis, como vitaminas por exemplo. A fração suspensão é constituída por micelas de caseína. Quase todo o cálcio e o fósforo presente no LH está associado às micelas. A fração solução é composta por água (87% do LH) e outras substâncias hidrossolúveis, como proteínas, sais minerais e carboidratos, além da maior parte dos imunobiológicos. (19)

O leite de mães que tiveram filhos prematuros é diferente do leite de mulheres que tiveram bebês a termo. O leite da mãe de prematuro tem maiores quantidades de proteínas totais, imunoglobulinas (como a IgA secretória), lipídios totais, ácidos graxos de cadeia média, energia, e algumas vitaminas e minerais, além de maiores concentrações de fatores de crescimento e hormônios benéficos à maturação intestinal. (20,21)

Apesar disso, fornece quantidades insuficientes de proteína, cálcio, fósforo e sódio para suprir as necessidades dos RN de muito baixo peso ao nascer, além de que pode ser necessário grande volume de líquido para atingir calorias suficientes para o crescimento adequado. (8–12,21) Estudos observacionais demonstram que lactentes prematuros alimentados com LH apresentam taxas de crescimento menores que aqueles alimentados com FP ou para bebês a termo (8–12,21), o que pode levar a menores perímetros

cefálicos na alta e piores desfechos neurocognitivos aos 12-18 meses de IG. (3,22)

Estima-se que a quantidade de calorias necessária para o crescimento de prematuros seja de 5 a 6 calorias/grama de peso ganho, e pode ser oferecida sob a forma de proteína, gordura ou carboidrato. (8,11,12) A gordura proporciona aproximadamente 50% das calorias do leite humano, entretanto seu conteúdo exato pode variar entre indivíduos e num mesmo indivíduo dependendo da hora do dia ou da fase da lactação. (12) No caso de prematuros de muito baixo peso ao nascer, convém lembrar que a gordura pode aderir aos recipientes e instrumentos de administração, o que pode ter impacto na quantidade de calorias oferecida. (25) A digestão da gordura também é limitada pela imaturidade das lipases intestinais e secreção diminuída de sais biliares. (12)

Prematuros nascem com baixa reserva óssea de cálcio e fósforo, pois dois terços do conteúdo mineral ósseo são adquiridos no último trimestre de gestação. Entretanto, necessitam de altos aportes destes minerais para atingir crescimento adequado. (9) Estão descritas desmineralização óssea, raquitismo e fraturas em prematuros recebendo aporte inadequado de cálcio e fósforo, como o que é atingida em caso utilização exclusiva de leite materno. (8)

Apesar destas desvantagens, já estão descritos benefícios da utilização de LH para prematuros, tanto em curto quanto em longo prazo. Entre as vantagens em curto prazo destacam-se menor tempo para esvaziamento gástrico, menor tempo para atingir dieta plena, a presença de fatores que estimulam crescimento, motilidade e maturação do trato gastrointestinal (6,20) e menor incidência de enterocolite necrosante (6) (Risco Relativo - RR: 0,42; IC

95%: 0,18-0,96 comparado à fórmula de acordo com uma metanálise publicada pela *Agency for Health Care Research and Quality* (13), sepse e outras infecções (6,20). Enzimas presentes no leite materno podem melhorar a absorção e utilização de nutrientes mais eficientemente, mesmo quando utilizado em combinação com FP (20). Em longo prazo, a utilização de leite materno protege de doenças crônico degenerativas. (7,14–18)

4.2. Aditivos de Leite Humano

Diversos estudos ao longo do tempo avaliaram a eficácia e a segurança da suplementação do leite materno, seja ele pasteurizado de doadoras saudáveis ou leite materno cru da própria mãe, com minerais, proteína, gordura ou carboidratos, isolados ou combinados, na alimentação de prematuro de muito baixo peso ao nascer. O racional para a suplementação do LH se baseia em alguns pressupostos. Em primeiro lugar, apesar de inúmeras vantagens, o LH fornece quantidades insuficientes de proteína, cálcio, fósforo e sódio para suprir as necessidades estimadas deste lactente. (8–12) Em segundo lugar, nem sempre se dispõe de leite materno da própria mãe em quantidades suficientes. Nestes casos, a primeira alternativa deve ser o leite de banco de leite humano (BLH). (19,20) Entretanto, leite materno de BLH geralmente foi doado por mulheres com bebês nascidos a termo e tendem a apresentar conteúdo energético menor que das fórmulas para prematuro ou fórmulas para bebês a termo. (20) Além disso, apesar da pasteurização não afetar a composição dos macronutrientes (26), o processamento do LH pode comprometer sua qualidade. (20,25) Entretanto, apesar de levar a menores

taxas de crescimento (6,8–12), mantém suas propriedades protetoras contra infecção, principalmente contra ECN, sem o risco de transmissão de agentes infecciosos. (20) Por fim, como opções ao LHOP existem as fórmulas para prematuro, que, apesar de promoverem taxas de crescimento semelhantes ao crescimento intrauterino, levam a piores desfechos clínicos, como a maior incidência de ECN (13) e de síndrome metabólica na vida adulta. (7,14–18)

Segundo duas metanálises publicadas pela Colaboração Cochrane por Kuschel e colaboradores, a suplementação de leite materno com fórmulas multicomponentes (8) ou com proteínas isoladamente (10) estão associadas a pequeno aumento no ganho de peso, crescimento linear e PC em curto prazo como demonstra a Tabela 1 (8,10) Entretanto, o efeito das fórmulas multicomponentes sob a mineralização óssea ainda não está claro. (8)

Três metanálises, também publicadas pela Colaboração Cochrane por Kuschel e colaboradores (8,10), não demonstraram benefício no uso de aditivos compostos exclusivamente por hidrato de carbono, gordura ou cálcio e fósforo ao LH e não recomendam seu uso de forma rotineira na prática clínica. (9,11,12)

Entretanto, apesar de aparentes vantagens, a utilização de aditivos não é livre de riscos, eles podem alterar a osmolaridade do leite, reduzindo a qualidade de absorção de seus constituintes (19), podem se aderir aos frascos e sondas de administração (25) e aumentar o risco de infecção por contaminação secundária à manipulação do pó. (19)

Tabela 1 – Resultado de metanálises anteriores

Desfecho	Kuschel (8)	Kuschel (10)
----------	-------------	--------------

	N (estudos/ sujeitos)	Tamanho do Efeito	N (estudos/ sujeitos)	Tamanho do Efeito
Ganho de Peso (g/Kg/dia)	8 / 450	2,33 (1,73; 2,93)	4 / 90	3,641 (2,434; 4,847)
Ganho de Peso (g/dia)	3 / 55	4,74 (2,78; 6,70)	-	-
Ganho de Comprimento (cm/semana)	8 / 416	0,12 (0,07; 0,18)	3 / 74	0,278 (0,177; 0,380)
Ganho de PC (cm/semana)	9 / 428	0,12 (0,07; 0,16)	3 / 74	0,145 (0,062; 0,227)
ECN	7 / 640	1,33 (0,69; 2,54)	-	-
Tolerância Gastrointestinal	3 / 67	2,85 (0,62; 13,08)	-	-

Todos os resultados estão expressos em Diferença de Média (IC 95%), exceto para Tolerância e ECN, expressos em RR (IC 95%)

Mais recentemente foram desenvolvidos aditivos em apresentação líquida. Suas principais vantagens são o fato de serem estéreis, reduzindo o risco de contaminação, e de se diluírem de forma mais homogênea no LH. Entretanto, esses aditivos diluem o LH diminuindo a concentração de alguns fatores de defesa e de componentes bioativos, além disso, diminuem o volume total de LH ofertado ao RN. Por outro lado, em caso de baixa produção láctea, quando não se dispõe de LHOP de BLH, podem permitir a utilização de LH misturado ao aditivo por um tempo maior, postergando o início de utilização de FP. (23,24)

4.3. O Funcionamento do Banco de Leite Humano

Os receptores habituais do leite de BLH são os prematuros de muito baixo peso ao nascer cujas mães não produziram quantidades suficientes de leite materno. (19,20)

O primeiro BLH do Brasil foi implantado em outubro de 1943 no Instituto Nacional de Puericultura, atual Instituto Fernandes Figueira (IFF). Seu principal objetivo era coletar e distribuir LH, com métodos algumas vezes questionáveis, onde a maior parte das doadoras eram mulheres pobres, que encontravam na comercialização do leite uma forma de sustento, prática que estimulou a gravidez em muitas delas. Desde aquela época, estudos epidemiológicos já evidenciavam que 85% dos óbitos por desnutrição entre lactentes desmamados estavam associados ao uso de alimentação artificial, o que foi capaz de justificar a implantação dos BLH. Até 1985, os BLH funcionavam com o único objetivo de obter LH, que era distribuído preferencialmente na forma de produto cru, sem receber qualquer tipo de tratamento, além de que não havia nenhuma preocupação em resgatar a amamentação das mães dos receptores. (19) A partir de 1985 o Brasil experimentou uma expansão dos BLH (19) e, segundo dados da Rede de BLH brasileira, existem atualmente mais de 200 BLH e mais de 100 Postos de Coleta de Leite Humano cadastrados. (27) A partir do início da década de 90 houve significativo aumento na quantidade de LH doado e de bebês beneficiados, como demonstra a Tabela 2 (27) Contribuiu para este aumento a parceria entre os BLH e Corpo de Bombeiros Militar, que permitiu que mulheres realizassem coleta de LH para doação no domicílio. (19) Em 2012 e 2013, por exemplo, São Paulo captou o maior volume de LH (aproximadamente 25% do total nacional) beneficiando também o maior número de bebês (aproximadamente 18% do total). Em segundo e terceiro lugar se revezando vieram Paraná e Distrito Federal (cada um com aproximadamente 10% do total nacional a cada ano). O estado com menor captação de LH em 2012 e 2013 foi

o Acre (aproximadamente 0,3% do total nacional). O Rio de Janeiro foi responsável pela doação de 5.701,3 litros de LH em 2012 e 7.190,3 litros em 2013 (3,58% e 4,13% do total nacional respectivamente) e beneficiou 2.964 e 3.033 bebês, o que merece reflexão do governo e da sociedade uma vez que o Centro de Referência Nacional é o BLH do IFF, localizado em nossa cidade. (27)

Com o passar dos anos os BLH se consolidaram como centros de promoção do aleitamento materno. Além disso, foram desenvolvidas metodologias de baixo custo, sensíveis e seguras para o processamento e o controle de qualidade do LH, o que possibilitou, por exemplo, enfrentar com tranquilidade técnica a epidemia de AIDS, enquanto em várias regiões do mundo BLHs foram fechados. (19)

Em 04 de setembro de 2006 foi publicada a RDC-ANVISA nº. DE 171 que regulamentou a instalação e funcionamento de BLH e PCLH em todo território nacional, com objetivo de garantir a segurança sanitária do LHO. (28) Esta norma definiu que o BLH é um serviço especializado, vinculado a um hospital de atenção materna e/ou infantil, sendo responsável por ações de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno e execução de atividades de coleta, processamento, controle de qualidade e distribuição do leite pasteurizado, sendo proibida sua comercialização. (28)

Tabela 2 – Produção de Leite Humano de 1998 a 2012

Ano	Leite Coletado (litros)	Leite Distribuído (litros)	Doadoras (n)	Receptores (n)
1998 a 2004	503.553 (MA 83.926)	ND	348.299 (MA 58.050)	610.632 (MA 101.772)
2004*	160.594	ND	92.677	116.578
2005	ND	ND	ND	ND

2006	150.006,0	114.043,8	115.961	165.056
2007	150.079,7	110.195,5	139.897	156.758
2008	165.278,1	125.246,7	125.666	170.581
2009	168.053,5	129.342,1	160.022	160.666
2010	168.591,9	127.782,0	160.433	157.748
2011	167.482,6	127.882,1	168.273	170.751
2012	159.196,4	125.412,3	138.891	169.592
2013	174.016,9	127.595,4	159.219	177.103
2014**	21.431,9	15.454,1	18.273	23.417

www.redeblh.fiocruz.br(27)

MA: Média Anual; ND: dados não disponíveis

* Faltam dados de 29 BLH e 2 informaram a produção de 3 meses apenas.

** De 01/01/2014 a 29/03/2014

Deve ser observado o seguinte fluxo de trabalho no BLH conforme a Figura 1, considerando-se que as doações de LH são destinadas prioritariamente a RN prematuros e/ou doentes. (19)

O LHO cru e/ou pasteurizado deve ser estocado congelado, o que não altera significativamente a qualidade da fração lipídica do leite. (19,20) O leite cru congelado pode ser estocado por no máximo 15 dias após sua obtenção e o LHOP por até seis meses. (19)

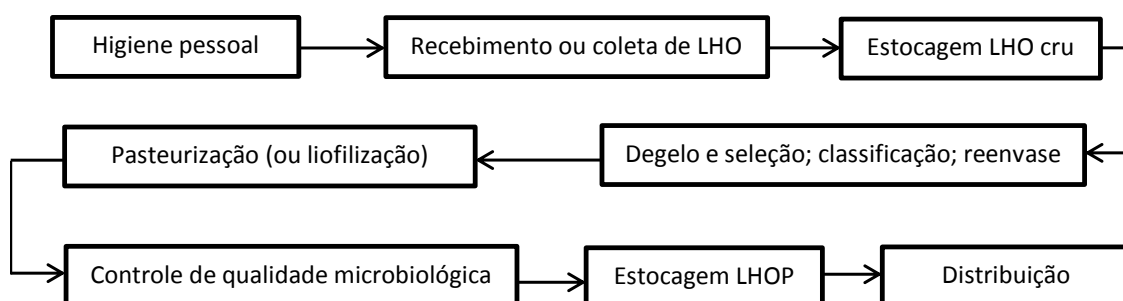


Figura 1 - Fluxo de trabalho no Banco de Leite Humano. Adaptado do manual da ANVISA(19)

No Brasil, todo o LH oferecido a bebês de mulher que não seja a mãe biológica deve ser processado conforme as normas da ANVISA.(19,28)O LHO

destinado ao consumo de RN, particularmente os internados em UTIs, não deve apresentar microrganismos em quantidade ou qualidade capazes de representar agravos à saúde. (19) A pasteurização (62,5° por 30 minutos) representa uma alternativa capaz de assegurar a qualidade sanitária do leite, e tem como objetivo garantir a inativação de 100% dos microrganismos patogênicos, contaminantes primários ou secundários, e de 99,99% da microbiota saprófita ou normal. (19) Este processo é capaz de inativar o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e o citomegalovírus, além de eliminar ou reduzir significativamente a maior parte dos outros vírus. (20) Após pasteurização e resfriamento, todas as amostras são avaliadas quanto à presença de microrganismos do grupo coliforme. Este procedimento é realizado por coleta de pequenas alíquotas que são incubadas em meio de cultura específico por 48 horas e só então o leite é liberado para o consumo. (19,20)

Com a pasteurização, a maior parte da IgA secretória, do fator bífido e das lisozimas permanece (apenas 0-30% são destruídos), os lipídios não são afetados, e a maioria das enzimas, fatores de crescimento, vitaminas e minerais não é modificada ou é minimamente diminuída. Acredita-se que o processo não influencie a absorção ou a retenção de nitrogênio. Entretanto, 57% da lactoferrina e 34% das IgGs são destruídas. (20)

O LH cru, sem pasteurização, só pode ser administrado se exclusivamente da mãe para o próprio filho, quando coletado sob supervisão, em ambiente próprio para este fim e para consumo em no máximo 12 horas, desde que mantido a temperatura máxima de 5°C. (19)

Atualmente, a recomendação da Rede Brasileira de BLH é de que, em condições excepcionais, o acréscimo de aditivos poderá ser realizado no momento da administração do LH, levando-se em consideração os riscos e benefícios provenientes da manipulação e do produto adicionado e apenas em ambiente hospitalar.(19)

5. Métodos

5.1 Estratégia de Busca

5.1.1 Questão de Pesquisa

Para a revisão da literatura, a questão da pesquisa foi estruturada no formato PICO, de acordo com o Quadro 1. Antes de ser realizada a busca, as palavras chaves, conforme apresentadas no Quadro 2, foram submetidas à opinião de especialistas.

Quadro 1-Questão Estruturada no Formato PICO

Patologia/População	Prematuros de muito baixo peso ao nascer ou com IG de nascimento \leq 34 semanas
Intervenção	Aditivos de Leite Humano
Comparadores	Sem restrição de comparadores
Desfechos	Sem restrições de desfechos
Desenho de Estudo	Metanálises, revisões sistemáticas e ensaios clínicos

Quadro 2- Palavras chaves

Patologia	“Infant, very low birth weight”, “Infant, Premature”
Intervenções	“Dietary Supplements”; “Food, Fortified”; “Calcium”; “Phosphorus”; “Calcium” and “Phosphorus”; “Glucans”; “Dietary Carbohydrates”; “Dietary Fats”; “Lipids”; “Dietary Proteins”; “Fatty Acids, Unsaturated”; “Milk, Human”

5.1.2 Elaboração da Estratégia de Busca

As buscas foram realizadas até junho/2013 utilizando-se a estratégia de busca apresentada no Quadro 3, construída para a base de dados do Pubmed (via vocabulário controlado MeSH) e adaptada para as demais bases de dados de acordo com as especificidades de cada uma, sem limite temporal e com limite de idiomas (português, inglês, espanhol, francês, italiano e hebraico). Não foram empregadas palavras-chave ou qualquer limite direcionado a localizar especificamente os desfechos de interesse, uma vez que essa informação é usualmente obtida apenas na revisão dos métodos ou dos resultados do estudo e não existem termos controlados que possam identificar de forma sensível esse desfecho. Os estudos foram incluídos na busca em bases de dados independente desse aspecto e a seleção por desfecho foi realizada a partir da leitura na íntegra dos *abstracts* ou artigos publicados.

As bases de dados pesquisadas foram o Registro Cochrane Central de Ensaio Controlados (*Cochrane Central Register of Controlled Trials*), *The Cochrane Library*, MEDLINE via Pubmed, EMBASE, SCOPUS, Scielo e Lilacs, anais de eventos científicos (em especial os da *Society for Pediatric Research - Spr*), listas de referências dos artigos identificados e artigos de revisão relevantes.

5.2 Critérios de Elegibilidade

5.2.1 População

Prematuros com PN \leq 1500 g ou IG \leq 34 semanas.

Quadro 3– Estratégia de Busca para Pubmed

Linha da Patologia
("Infant, Very Low Birth Weight"[Mesh] OR "Very-Low-Birth-Weight Infant" OR "Infant, Very-Low-Birth-Weight" OR "Infants, Very-Low-Birth-Weight" OR "Very Low Birth Weight Infant" OR "Very-Low-Birth-Weight Infants" OR "Very Low Birth Weight") OR ("Infant, Premature"[Mesh] OR "Infants, Premature" OR "Premature Infant" OR "Preterm Infants" OR "Infant, Preterm" OR "Infants, Preterm" OR "Preterm Infant" OR "Premature Infants" OR "Neonatal Prematurity" OR "Prematurity, Neonatal")
Linha da Intervenção
((("Dietary Supplements"[Mesh] OR "Dietary Supplement" OR "Supplement, Dietary" OR "Supplements, Dietary" OR "Food Supplementation" OR "Supplementation, Food" OR "Nutraceuticals" OR "Nutraceutical" OR "Nutriceuticals" OR "Nutriceutical" OR "Neutraceuticals" OR "Neutraceutical" OR "Dietary Supplementation" OR "Dietary Supplementations" OR "Supplementation, Dietary" OR "Supplementations, Dietary" OR "Food, Supplemented" OR "Foods, Supplemented" OR "Supplemented Food" OR "Supplemented Foods" OR "Food Supplements" OR "Food Supplement" OR "Supplement, Food" OR "Supplements, Food") OR ("Food, Fortified"[Mesh] OR "Foods, Fortified" OR "Fortified Food" OR "Fortified Foods" OR "Enriched Food" OR "Enriched Foods" OR "Food, Enriched" OR "Foods, Enriched") OR ("Calcium" [Mesh] OR "Coagulation Factor IV" OR "Factor IV, Coagulation" OR "Factor IV" OR "Blood Coagulation Factor IV") OR ("Phosphorus"[Mesh] OR "Red Phosphorus" OR "Phosphorus, Red") OR ("Calcium" [Mesh] OR "Coagulation Factor IV" OR "Factor IV, Coagulation" OR "Factor IV" OR "Blood Coagulation Factor IV") AND ("Phosphorus"[Mesh] OR "Red Phosphorus" OR "Phosphorus, Red")) OR ("Glucans"[Mesh] OR "Glucose Polymer" OR "Polymer, Glucose" OR "Polyglucoses" OR "Polycose" OR "Glucan (BO)") OR ("Dietary Carbohydrates" [Mesh] OR "Carbohydrates, Dietary" OR "Carbohydrate, Dietary" OR "Dietary Carbohydrate") OR ("Dietary Fats"[Mesh] OR "Fats, Dietary" OR "Dietary Fat" OR "Fat, Dietary" OR "Ghee" OR "Ghee") OR ("Lipids"[Mesh]) OR ("Dietary Proteins"[Mesh] OR "Proteins, Dietary" OR "Dietary Protein" OR "Protein, Dietary") OR ("Fatty Acids, Unsaturated"[Mesh] OR "Acids, Unsaturated Fatty" OR "Unsaturated Fatty Acids" OR "Polyunsaturated Fatty Acids" OR "Acids, Polyunsaturated Fatty" OR "Fatty Acids, Polyunsaturated")) AND ("Milk, Human"[Mesh] OR "Breast Milk" OR "Breast Milks" OR "Milk, Breast" OR "Human Milk")
Filtro para Ensaios Clínicos e RS
((randomized controlled trial[pt]) OR (controlled clinical trial[pt]) OR ("Randomized Controlled Trials as Topic"[Mesh]) OR ("random allocation"[Mesh]) OR ("double-blind method"[Mesh]) OR ("single-blind method"[Mesh]) OR (clinical trial[pt]) OR ("clinical trials as topic"[Mesh]) OR ("Controlled Clinical Trials as Topic"[Mesh]) OR ("clinical trial"[tw]) OR ((singl*[tw] OR doubl*[tw] OR trebl*[tw] OR tripl*[tw]) AND (mask*[tw] OR blind*[tw])) OR (("placebos"[Mesh]) OR placebo*[tw] OR random*[tw] OR ("research design"[mh:noexp]) OR ("comparative study"[pt]) OR ("evaluation studies as topic"[Mesh]) OR "evaluation studies"[pt] OR ("Drug Evaluation"[Mesh]) OR ("follow-up studies"[Mesh]) OR ("prospective studies"[Mesh]) OR ("multicenter study" [pt]) OR control*[tw] OR prospectiv*[tw] OR volunteer*[tw]) NOT (("animals"[Mesh]) NOT ("humans"[Mesh]))) OR (search*[tiab] OR review[pt] OR meta-analysis[pt] OR meta-analysis[tiab] OR meta-analysis[Mesh])

5.2.2 Intervenção

Estudos que comparassem a utilização LH suplementado com aditivos multicomponentes ao LH puro, à fórmula para recém-nascidos a termo ou

prematuros ou a outros aditivos. Foram considerados aditivos multicomponentes aqueles que apresentassem mais de um dos seguintes nutrientes: proteína, gordura, carboidrato ou minerais (cálcio e/ou fósforo). Aditivos contendo apenas um dos nutrientes mencionados associado a eletrólitos, vitaminas ou oligoelementos não foram considerados multicomponentes e foram excluídos desta revisão.

5.2.3 Comparações

Foram programadas três comparações:

- Comparação 1: LH suplementado com aditivo multicomponente ao LH puro;
- Comparação 2: LH suplementado com aditivo multicomponente comparado à FP;
- Comparação 3: Diferentes aditivos multicomponentes comparados entre si.

5.2.4 Desfechos

Para análise de eficácia foram avaliados os seguintes desfechos:

- Taxa de crescimento em curto prazo, definida como aumento do peso, do comprimento e / ou do PC durante o período de intervenção;
- Taxa de crescimento em longo prazo, definida como aumento do peso, comprimento e / ou PC após a alta hospitalar, em momento pré-definido pelo(s) autor(es) do(s) estudo(s) que avaliasse(m) esta variável;

- Desenvolvimento neuropsicomotor, avaliado após a alta hospitalar, em momento pré-definido pelo(s) autor(es) do(s) estudo(s), sem restrição quanto aos testes utilizados para esta avaliação;

- Níveis Séricos de Cálcio, Fósforo e Fosfatase Alcalina.

Para análise de segurança, foram avaliados os seguintes desfechos:

- Presença de enterocolite necrosante;

- Óbito.

Por sua pouca relevância clínica, não foram analisados como desfechos estudos de balanço metabólico, tempo de esvaziamento gástrico ou episódios de refluxo gastroesofágico.

5.2.5 Tipos de estudo

Buscaram-se metanálises, revisões sistemáticas ou ensaios clínicos controlados, que avaliaram a eficácia e segurança da suplementação do LH com aditivos multicomponentes, na alimentação de prematuros de muito baixo peso ao nascer ou com IG de nascimento ≤ 34 semanas. Estudos publicados como *abstract* ou anais de eventos científicos seriam incluídos se apresentassem detalhes suficientes sobre as características dos estudos e seus resultados. Preferencialmente, os ensaios clínicos deveriam apresentar alocação randomizada de pacientes, o que nem sempre foi possível, pela própria natureza dos estudos, uma vez que seria antiético impor à mãe de qualquer participante amamentar ou não seu bebê prematuro de acordo com o grupo ao qual o recém-nascido fosse randomizado.

5.3 Extração, Tabulação e Análise dos Dados

Dois revisores (FNC e LDV) realizaram a busca nas bases de dados utilizando a estratégia previamente definida e selecionaram os estudos para inclusão na revisão. Planejou-se, inicialmente, que, nos casos em que não houvesse consenso, um terceiro revisor (MELM) seria consultado sobre a elegibilidade e ficaria responsável pela decisão final.

Os estudos incluídos na revisão foram analisados com base nos seguintes critérios de qualidade e indicadores metodológicos:

- Características dos estudos, de acordo com critérios de qualidade PRISMA(29)(Anexo 1);
- Características da população: Prematuros de muito baixo peso ao nascer ou IG de nascimento \leq 34 semanas;
- Características da intervenção: Aditivos multicomponentes de LH, FP, LH puro;
- Medidas de eficácia: crescimento em curto prazo, crescimento em longo prazo, desenvolvimento, níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina;
- Medidas de segurança: enterocolite necrosante, óbito.

Os dados foram extraídos dos estudos primários e das revisões sistemáticas ou metanálise via formulário de extração de dados disponível no Apêndice 1.

Após a extração dos dados foi realizada, quando possível, uma metanálise com o objetivo de ampliar os achados dos estudos individuais.

Entre os critérios mínimos para a elaboração da metanálise destacam-se desenhos similares de estudo, populações comparáveis, desfechos quantificáveis e qualidade metodológica semelhante. Para as variáveis contínuas (crescimento em curto e longo prazo, desenvolvimento e níveis séricos de cálcio fósforo e fosfatase alcalina), a síntese dos resultados foi apresentada como diferença de média. Para as variáveis categóricas (ECN e óbito), a síntese dos resultados foi apresentada como RR. O programa utilizado para realização das análises foi o STATA® versão 10.0.

Nos casos em que não foi possível realizar a metanálise, os resultados foram apresentados de forma descritiva.

6. Resultados

6.1 Tabulação e Análise dos dados

Após a realização da busca nas bases de dados, 1255 títulos foram localizados. Aplicados os critérios de elegibilidade, dois revisores selecionaram 50 estudos para leitura na íntegra, conforme demonstra a

Figura 2. Destes, 29 estudos foram selecionados e incluídos nesta revisão. Não foi possível incluir nenhum *abstract*.

A estratégia de busca identificou uma única metanálise, realizada pela Colaboração da Cochrane, que comparou LH puro ao LH suplementado com aditivos multicomponentes. Esta metanálise incluiu prematuros sem especificar IG ou PN mínimos e realizou busca até 2003. Os estudos incluídos na metanálise Cochrane (8) que obedeceram nossos critérios de inclusão foram incluídos nesta metanálise como estudos primários. A metanálise Cochrane foi excluída, assim como alguns dos estudos primários cuja população não obedeceu aos nossos critérios de inclusão.

Do total de 29 estudos incluídos, 11 foram selecionados apenas para a “Comparação 1” (LH fortificado *versus* LH puro), quatro foram selecionados apenas para a “Comparação 2” (LH fortificado *versus* FP), quatro foram selecionados para as duas primeiras comparações e 11 foram selecionados para a “Comparação 3” (diferentes aditivos entre si).

Os estudos excluídos encontram-se no Apêndice 2.

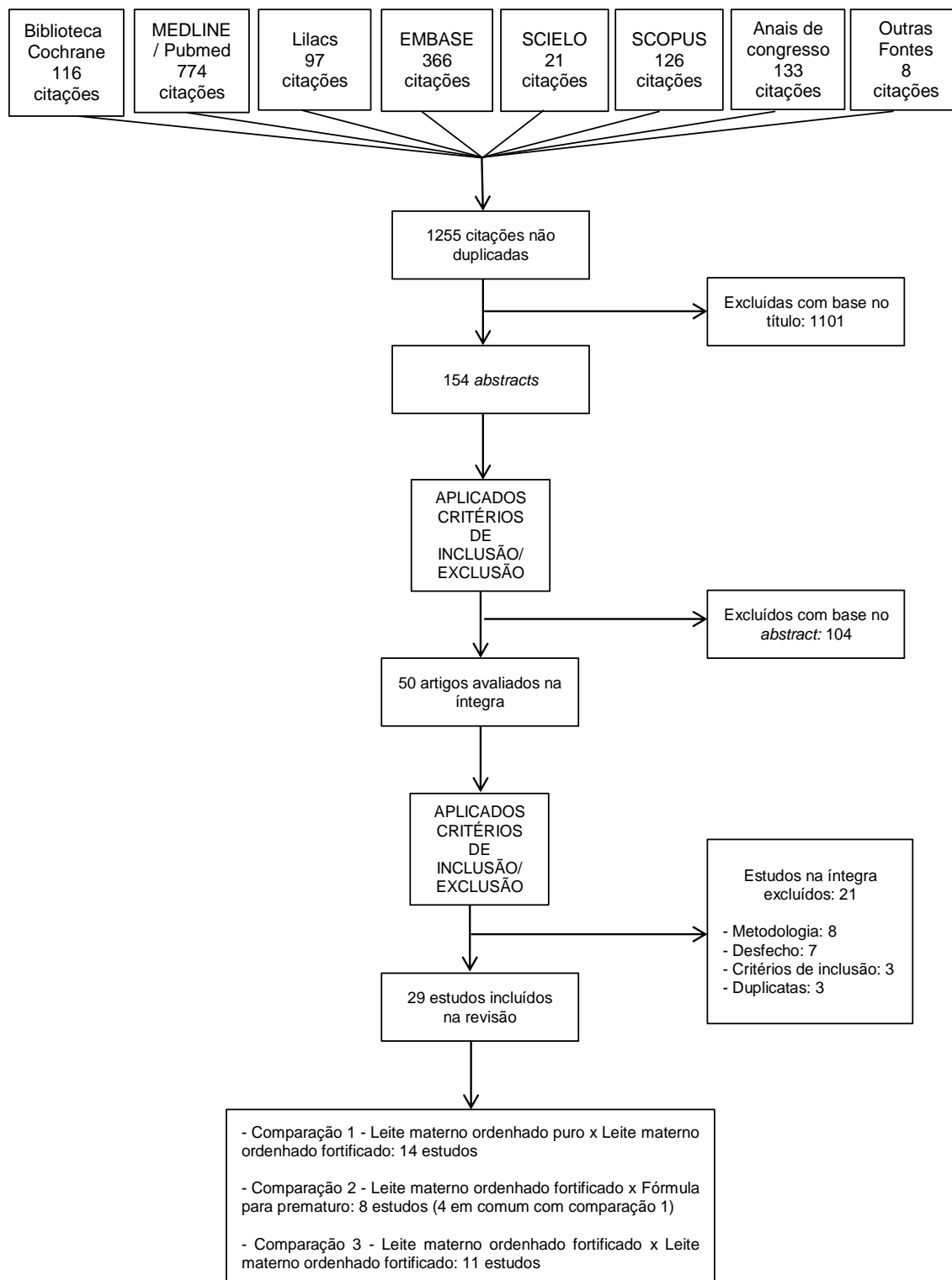


Figura 2 - Seleção de estudos: baseado no fluxograma PRISMA (29)

6.2 Comparação 1– Leite humano suplementado com aditivo multicomponente x Leite humano puro

6.2.1 Descrição dos estudos:

Foram incluídos 14 ensaios clínicos com 639 pacientes considerando todos os desfechos.

O tipo de aditivo utilizado variou. Um estudo, de Gross e colaboradores (30), foi realizado em duas fases com dois grupos diferentes de pacientes. Na primeira fase utilizou como aditivo uma FP diluída volume a volume com leite materno. Na segunda fase, quando os aditivos multicomponentes já estavam disponíveis, os autores compararam LH puro, suplementado com um aditivo multicomponente não especificado ou com fórmula da mesma forma que na primeira fase. Apenas mais um estudo, de Zuckerman (31) e colaboradores, utilizou fórmula como aditivo. Outros sete estudos, de Bhat, Modanlou, Carey, Greer, Pettifor, Kashyap, Polberger (32–38) e colaboradores também não especificaram o aditivo utilizado e cinco, de Mukhopadhyay, Faerk, Martins, Wauben e Nicholl (39–43) e colaboradores, especificaram. Exceto o estudo publicado por Pettifor e colaboradores (37), que utilizou um aditivo em apresentação líquida, todos os outros estudos utilizaram aditivos em pó. A composição dos diferentes aditivos na época da realização dos estudos está descrita Tabela 3, os estudos de Kashyap et al. e Carey et al. (33,35) foram os únicos que não informaram a composição exata.

Os critérios de inclusão foram variáveis, mas a maior parte dos ensaios clínicos utilizou PN \leq 1500 g (31–33,36–38,40,42,43). Os estudos de Greer et al. e Faerk et al. (34,39) utilizaram a IG \leq 34 semanas e não o peso como

principal critério. Três estudos, de Gross, Kashyap, Wauben e colaboradores (30,35,41), utilizaram pesos de nascimento maiores (até 1800g) sem pré-determinar a IG, estes estudos foram incluídos, pois todos os participantes apresentaram $IG \leq 34$ semanas.

De modo geral, os estudos excluíram RN graves ou portadores de anomalias congênitas.

A maior parte dos ensaios clínicos iniciou o aditivo quando os pacientes tolerassem um volume pré-definido de dieta, geralmente em torno de 100ml/kg/dia. A duração da maior parte dos estudos foi até que os pacientes atingissem um peso específico (em torno de 1800 a 2000 g), recebessem alta ou estivessem em aleitamento materno exclusivo por sucção ao seio materno.

Quatro ensaios clínicos, de Mukhopadhyay, Polberger, Wauben, Faerke colaboradores (38–41) suplementaram os pacientes do grupo controle com minerais, o que pode reduzir alguma diferença atribuída ao tratamento, por este motivo, foi realizada uma análise de sensibilidade excluindo esses estudos.

O estudo de Polberger e colaboradores (38) comparou o leite materno puro ao leite materno suplementado com proteína, gordura ou proteína e gordura. Apenas os grupos de LH puro e de LH suplementado com proteína e

Tabela 3- Comparação 1: Composição dos aditivos de leite humano, continuação.

Estudo / Nutriente	Kashyap 1990	Pettifor 1989	Polberger 1989	Greer 1988	Gross 1987	Carey 1987	Modanlou 1986	
	HMF	HMF líquido (por 100ml LHO)	HMF (por 100ml LHO)	HMF (por 100ml LHO)	HMF (1 FP: 1 LHO)	HMF (por 100ml)	HMF (1,6g: 100ml LHO)	HMF (4 sachês: 100ml LHO)
Calorias (kcal)	-	80	NI	NI	67	NI	NI	14
Proteína (g)	Sim	2,2	1	0,85	1,8	0,9	Sim	0,7
Gordura (g)	-	4,4	1	-	NI	-	-	Traços
Carboidrato (g)	-	8,6	-	-	NI	-	-	2,7
Cálcio (mg)	Sim	170	-	90	120	87	Sim	60
Fosfato (mg)	Sim	85	-	45	60	50	Sim	33
Sódio (mg)	Sim	38	-	-	NI	15	-	7
Potássio (mg)	-	1120	-	-	NI	50	-	17,7
Cloretos (mg)	-	-	-	-	NI	21	-	0,8
Ferro (mg)	-	0,3	-	-	NI	-	-	-
Vitaminas	Não	Sim	Não	Não	NI	Não	Não	NI

LHO: leite humano ordenhado; LHOF: leite humano ordenhado fortificado; HMF: *human milk fortifier* (aditivo de LH); FP: fórmula para prematuro Martins 2009: FM 85®; Mukhopadhyay 2007: Lactodex®; Bhat 2001: não especificado (laboratório Wyeth®); Faerk 2000: Eoprotin®; Nicholl 1999: Nutriprem®; Wauben 1998: MNF®; Zuckerman 1994: FP Alprem®; Kashyap 1990: não especificado; Pettifor 1989: não especificado, apresentação líquida (laboratório Ross®); Polberger 1989: não especificado; Greer 1988: não especificado (laboratório Ross®); Gross 1987: FP Similac Special Care®, HMF não especificado; Carey 1987: não especificado; Modanlou 1986: não especificado.

* Schanler et al. 2001 (44)

gordura foram incluídos nesta revisão. Já os estudos de Modanlou et al., Carey et al., Faerk et al., Wauben et al. e Nicholl et al. (33,36,39,41,42) compararam LH puro a LH suplementado com aditivo multicomponente ou à FP. Apenas os grupos de LH puro e LH suplementado com aditivo multicomponente foram incluídos nesta comparação. O estudo de Greer e colaboradores (34) realizou duas comparações: LH puro *versus* fortificado e FP *versus* fórmula para recém-nascido a termo. Apenas os grupos de LH foram incluídos na metanálise.

O estudo de Gross e colaboradores (30) foi incluído duas vezes na análise agrupada, por apresentar dados referentes a dois grupos completamente diferentes de paciente. Na segunda fase foram incluídos apenas dois braços, o LH puro e o LH com aditivo multicomponente, o terceiro braço (LH com FP) não entrou na análise agrupada dos dados.

As características dos estudos incluídos encontram-se na Tabela 4.

6.2.2 Risco de viés nos estudos incluídos

Nove dos 14 estudos incluídos relataram resultados para um máximo de 20 pacientes por braço, foram eles os ensaios clínicos realizados por Martins, Modanlou, Carey, Gross, Greer, Kashyap, Wauben, Polberger, Nicholl e colaboradores (30,33–36,38,41–43). Destes, apenas o estudo de Martins et al. (43) apresentou resultados para mais de 15 pacientes por braço. Apenas os estudos de Martins, Mukhophadhyay, Wauben, Faerk, Nicholl e colaboradores (39–43) e incluíram cálculo do tamanho amostral como parte do seu desenho, sendo que o estudo de Nicholl e colaboradores (42) apresentou resultados para um n menor que o necessário por este cálculo.

Seis estudos utilizaram alocação *quasi*-randomizada de pacientes. Zuckerman e colaboradores (31) se basearam nos números de prontuários. Carey, Modanlou, Wauben, Nicholl e colaboradores (33,36,41,42) realizaram estudos com três braços, no qual randomizaram apenas os bebês cujas mães desejavam amamentar, o terceiro braço utilizou FP e foi composto por pacientes cujas mães não desejaram ou não puderam amamentar. Os três primeiros (33,36,41) não informaram o método de randomização dos dois braços de LH e o estudo de Nicholl e colaboradores (42) utilizou envelopes selados. Kashyap e colaboradores (35) mantiveram os pacientes nos grupos LH ou LH com aditivos se houvesse leite materno em quantidade suficiente e não contaminado, caso contrário, os participantes trocaram para um terceiro grupo, que recebeu LHOP com aditivo multicomponente. Os estudos publicados por Bhat et al., Pettifor et al., Wauben et al. e Greer et al. (32,34,37,41) também não informaram o método de randomização. Três estudos, de Faerk, Gross, Polberger e colaboradores (30,38,39), utilizaram envelopes selados e outros dois, de Martins et al. e Mukhopadhyay et al. (40,43), tabela de números aleatórios.

Os estudos de Martins, Bhat, Faerk, Polberger (32,38,39,43) e colaboradores foram duplo cego, o restante dos estudos ou foi aberto ou não forneceu informações sobre cegamento.

Todos os estudos focaram em prematuros que estivessem em condições de saúde relativamente boas. RN portadores de malformações congênitas, alterações cromossômicas e/ou doenças de moderada ou alta gravidade não foram recrutados ou foram excluídos do resultado final, o que pode afetar o resultado da metanálise. Para exemplificar, temos o caso de RN em ventilação mecânica, excluídos de

grande parte dos estudos. Estes pacientes, além de apresentarem maior gasto calórico, frequentemente utilizam diurético, que aumentam o risco da doença óssea metabólica. É possível que estes pacientes apresentem grande benefício com uso dos aditivos, o que se constitui num viés de seleção.

Apenas os estudos de Faerk et al e Martins et al (39,43) realizaram a análise dos resultados por intenção de tratamento, sendo que no estudo de Martins et al. (43) não houve nenhuma perda após a randomização. Os outros autores apresentaram os resultados para os pacientes que completaram os estudos, sem informar o número de pacientes recrutados e / ou a razão das perdas.

Dos sete ensaios clínicos que avaliaram nível sérico de cálcio e fósforo, os estudos de Mukhopadhyay, Carey, Greer, Modanlou e colaboradores (33,34,36,40) avaliaram as unidades em gramas por decilitro, os outros três, de Wauben, Pettifor, Zuckerman e colaboradores (31,37,41) em mmol/litro ou mEq/litro. Em nenhum caso as unidades puderam ser convertidas porque não tivemos acesso aos dados primários. Entre esses estudos, apenas o de Pettifor e colaboradores não avaliou níveis séricos de fosfatase alcalina. Entretanto, o estudo de Mukhopadhyay et al. (40) foi excluído da análise agrupada por apresentar dados em unidade que não pode ser convertida pela mesma razão exposta acima. Essas exclusões podem ter afetado o resultado final.

Os ensaios clínicos de Mukhopadhyay et al., Polberger et al., Wauben et al. e Faerk et al. (38–41) suplementaram os pacientes do grupo controle com minerais, o que pode reduzir alguma diferença atribuída ao tratamento, por este motivo, foi programada uma análise de sensibilidade excluindo esses quatro estudos.

6.2.3 Efeitos da Intervenção

Considerando todos os desfechos, foram analisados 639 RN. Os resultados da metanálise estão descritos nas Tabela 5 e Tabela 5.

Crescimento em curto prazo

Entre os 14 estudos, 12, incluindo 518 RN, avaliaram crescimento em curto prazo, sendo que todos avaliaram taxa de ganho de peso. (30,32–38,40–43) O crescimento linear foi avaliado por oito estudos (30,34–36,38,40,41,43), incluindo 337 prematuros e a taxa de crescimento do PC por nove estudos (30,34–36,38,40,41,43), com 349 prematuros. A maior parte dos ensaios clínicos demonstrou vantagens relacionadas ao crescimento em curto prazo com a suplementação do leite materno com aditivos multicomponentes.

A análise global dos resultados demonstrou um maior ganho de peso entre os prematuros que receberam aditivos (Diferença de Média de Ganho de Peso: 3,179 g/Kg/d; IC 95%: 2,531 a 3,828 g/Kg/d). O resultado se manteve estatisticamente significativo na análise de sensibilidade, que excluiu os ensaios clínicos que suplementaram o grupo controle com minerais (38,40,41) (Diferença de Média de Ganho de Peso: 3,892 g/Kg/d; IC 95%: 2,958 a 4,827 g/Kg/d a favor do grupo utilizando aditivos multicomponentes).

Para aqueles estudos que informaram o aumento de peso em gramas por dia, também houve um aumento maior entre os RN utilizando aditivo (Diferença de Média de Ganho de Peso: 4,496 g/d; IC 95%: 3,750 a 5,243 g/d). Nenhum dos estudos que avaliaram esta variável suplementou o grupo controle com minerais, portanto não foi realizada análise de sensibilidade para esse parâmetro.

Por fim, um ensaio clínico publicado por Bhat e colaboradores (32) demonstrou taxa de ganho de peso menor que 20g/dia em 86% dos RN do grupo controle (LH puro, n=50) e em apenas 18% dos RN utilizando aditivos de LH (n=50), a diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$).

Na análise agrupada, os prematuros recebendo LH fortificado demonstraram maior crescimento linear (Diferença de Média de Crescimento Linear: 0,129cm/sem; IC 95%: 0,096 a 0,163 cm/sem) e maior PC que aqueles alimentados apenas com LH puro (Diferença de Média de Ganho de PC: 0,081 cm/semana; IC 95%: 0,059 a 0,104 cm/sem). Na análise de sensibilidade, ambos os resultados mantiveram-se estatisticamente significativos (Diferença de Média de Crescimento Linear: 0,102 cm/sem; IC 95% 0,063 a 0,140 cm/sem e Diferença de Média de Ganho de PC: 0,081 cm/semana; IC 95%: 0,057 a 0,106 cm/sem).

Tabela 4- Comparação 1: Característica dos estudos incluídos.

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Martins 2009	ECR, 1 centro, PN < 1500g -20 LHO (FM 85®) - 20 LHO	Tabela de numeros aleatórios	- Ganho de peso (g/dia) - Comprimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Intolerância GI	Sim	Duplo cego	ITT	Não	Sim (20/grupo)
Mukhopadhyay 2007	ECR, 1 centro, PN ≤ 1500g -85 LHO (Lactodex®) - 71 LHO	Tabela de números aleatórios Obs: Grupo controle recebeu minerais	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Comprimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Intolerância GI	NI	NI	PP	9/166 (5,4%)	Sim. (32/grupo)

Tabela 4- Comparação 1: Característica dos estudos incluídos, continuação.

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Bhat 2001	ECR, 1 centro, PN ≤ 1500g -50 LHO (NE) - 50 LHO	NI (pareado por IG e PN)	- Ganho de peso < 20 g/dia - ECN	NI	Duplo cego	NI	NI	Não
Faerk 2000	ECR, 2 centros, IG < 32 semanas -36 LHO (Eoprotin®) - 40 LHO (com fosfato) - 51 FP	Envelopes selados opacos, em bloco, estratificado por PN OBS 1: Se Randomizado para fórmula e houvesse LMO própria mãe, recebia LM (por razões éticas), por este motivo randomização não foi balanceada, com mais pacientes para grupo FP. Se Randomizado para um dois grupos de LM e não houvesse leite da propria mãe: recebia leite de BLH com alta proteína OBS 2: Grupo controle recebeu minerais	- Peso final (g) - C final (cm) - PC final (cm) - ECN (n)	Sim	Duplo cego	ITT e PP	13/165 (7,8%)	Sim (18/grupo)

Tabela 4 - Comparação 1: Característica dos estudos incluídos, continuação.

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Nicholl 1999	EC <i>quasi</i> - randomizado, 1 centro, PN < 1500g -13 LHOF (NE) - 10 LHO - 29 FP	Envelopes selados (só para os que puderam/quiser am amamentar	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Dosagem de Ca, PO4, FA	Não	Aberto	NI	NI	Sim (15/grupo)
Wauben 1998	EC <i>quasi</i> - randomizado, 1 centro, PN < 1800g (IG foi ≤ 34 sem) -12 LHOF (MNF- Wyeth®) - 13 LHO (com Ca e F) - 12 FP (Premie SMA Wyeth®)	NI, apenas informa ser em bloco OBS: Grupo controle recebeu minerais	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca, PO4, FA	NI	Aberto pela natureza do fortificante e pelo desejo/ capacidade para amamentar	PP	7/37 (18,9%)	Sim (12/grupo)

Tabela 4 - Comparação 1: Característica dos estudos incluídos, continuação.

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Zuckerman 1994	ECR <i>quasi</i> -randomizado, aberto, 1 centro, PN < 1200g -29 LHOF (FP Alpren® 1:1 LHO) - 24 LHO	Número de prontuário (par : controle / impar : intervenção)	- Peso (g) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca, PO4, FA	Não	NI	PP (no seguimento de 10 semanas analisa apenas 17 pacientes)	3/56 (5,3%)	NI
Kashyap 1990	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN 900-1750g (IG foi ≤ 34 sem) -13 LHOF (NE) - 14 LHO - 15 LHOF (NE / BLH)	NI	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - ECN (n)	NI	Aberto	PP	39/66 (59%)	NI

OBS: Inicialmente os RN foram randomizados para LHO ou LHOF. Se LHO própria mãe ≤ 75% do volume/dia ou contaminado, RN transferido para grupo LHO de BLH (dado por mães de RN AT) com aditivo

Tabela 4 - Comparação 1: Característica dos estudos incluídos, continuação.

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Pettifor 1989	ECR, 1 centro, PN 1000- 1500g -29 LHOF (líquido, NE, lab. Ross®) - 30 LHO	NI	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca, PO4, FA	NI	NI	PP	41/100 (41%)	Não
Polberger 1989	ECR, 2 centros, PN < 1500g -7 LHOF (proteína +gordura) - 7 LHO - 7 LHOF (proteína) - 7 LHOF (gordura)	Envelopes selados OBS: Grupo controle recebeu minerais	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem)	NI	Duplo cego	PP	6/34 (17,6%)	NI

Tabela 4 - Comparação 1: Característica dos estudos incluídos, continuação.

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Greer 1988	ECR, 1 centro, PN < 1600g, IG < 32 sem -10 LHOF (NE, lab.® Ross) - 10 LHO	NI	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca, PO4, FA	NI	Aberto	PP	NI	NI
Gross 1987	ECR, 1 centro, PN < 1600g, (IG foi ≤ 34 sem) <u>Fase 1</u> -10 LHOF (FP 1:1 LHO) - 10 LHO <u>Fase 2</u> - 8 LHOF (NE) - 9 LHOF (FP 1:1 LHO) - 9 LHO	Envelopes selados	- Ganho de peso (g/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca, PO4, FA - Crescimento com 44 semanas	NI	Aberto	PP	4/50 (8%) Todas as perdas na fase 2	NI

Tabela 4 - Comparação 1: Característica dos estudos incluídos, continuação

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Carey 1987	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN ≤ 1500g -6 LHOF (NE) - 9 LHO - 7 FP (Similac Special Care®)	NI (apenas para entre os que decidiram amamentar)	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca e FA OBS: Estudo original desenhado para balanço metabólico, não deu certo, publicaram desfechos secundários	Não	NI	PP	NI	NI
Modanlou 1986	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN ≤ 1500g -8 LHOF (NE) - 10 LHO - 12 FP (Enfamil®)	NI (mas só para entre os que decidiram amamentar)	-Ganho de peso (g/dia) - Comprimento (cm/sem) - PC (cm/sem) -Dosagem Ca, PO4, FA - ECN (n) OBS: ECN não foi um desfecho do estudo, mas foi relatado e entrou na MA	Não	NI	PP	23/53 (43,3%)	Não

ECR: ensaio clínico randomizado; EC: ensaio clínico; PN: peso de nascimento; LHOF: leite humano ordenhado fortificado; LHO: leite humano ordenhado; BLH: banco de leite humano; FP: fórmula para prematuro; IG: idade gestacional; PC: perímetro cefálico; FP 1:1 LHO: fórmula para prematuro diluída volume a volume com LHO; NI: não informado; NE : não especificado; Ca: cálcio; PO4: fósforo; FA: fosfatase alcalina; RN AT: recém nascido a termo; ITT: análise por intenção de tratamento (*intention to treat*); PP: análise por protocolo

Crescimento em longo prazo

Não foram identificados estudos que avaliassem esta variável.

Desenvolvimento

Não foram identificados estudos que avaliassem esta variável.

Enterocolite Necrosante

Os estudos de Mukhopadhyay et al., Bhat et al., Faerk et al., Zuckerman et al., Kashyap et al. e Modanlou et al.(31,32,35,36,39,40) compararam a incidência de enterocolite necrosante entre os pacientes que utilizaram LH fortificado com aditivos multicomponentes ou LH puro. O maior deles, de Mukhopadhyay e colaboradores(40), do qual participaram 156 prematuros, foi excluído da análise global, pois não houve casos de enterocolite em nenhum dos grupos. A análise agrupada dos outros cinco estudos, incluindo 238 pacientes, não demonstrou diferença estatisticamente significativa no risco de ECN nos pacientes recebendo aditivo de LH (RR: 1,032; IC 95%: 0,458 a 2,324).O resultado foi mantido na análise de sensibilidade, que excluiu o estudo de Faerk et al (39), que suplementou o grupo controle com fosfato (RR:1,024; IC 95%: 0,438 a 2,396).

Entretanto vale ressaltar que a frequência de eventos foi baixa nos dois grupos (10 casos em cada grupo), o que pode interferir no resultado final.

Níveis Séricos de Cálcio, Fósforo e Fosfatase Alcalina

Oito ensaios clínicos avaliaram nível sérico de cálcio e fósforo. Entretanto, enquanto os estudos de Mukhophadhyay, Carey, Greer, Modanlou e colaboradores(33,34,36,40)avaliaram as unidades em gramas por decilitro, os de Wauben, Pettifor, Zuckerman e colaboradores (31,37,41) avaliaram cálcio e fósforo em mmol/litro ou mEq/litro. As unidades não puderam ser convertidas porque não tivemos acesso aos dados primários, por este motivo, os três estudos de foram excluídos da metanálise. O estudo de Nicholl e colaboradores (42) não forneceu resultados numéricos e também foi excluído.

Desta forma, apenas quatro ensaios clínicos participaram da metanálise, tanto na avaliação dos níveis séricos de cálcio quanto de fósforo. Os níveis séricos de cálcio foram maiores no grupo utilizando LH fortificado, entretanto o resultado não foi estatisticamente significativo (Diferença de Média de Nível Sérico de Cálcio: 0,059 mg/dl; IC 95%: - 0,106 a 0,224 mg/dl). Também não houve diferença para os níveis séricos de fósforo na análise agrupada dos quatro estudos (Diferença de Média de Nível Sérico de Fósforo: 0,047 mg/dl; IC 95%: -0,297 a 0,391 mg/dl). Todos os valores encontram-se dentro do padrão de normalidade.

O resultado foi mantido mesmo após a exclusão do maior estudo, de Mukhophadhyay e colaboradores(40), que suplementou o grupo controle com minerais. Todos os estudos que participaram da análise de sensibilidade incluíram menos de 15 pacientes por braço de tratamento.

Os estudos de Wauben, Greer, Carey, Modanlou, Zuckerman e colaboradores(31,33,34,36,41) foram incluídos na análise agrupada dos níveis

séricos de fosfatase alcalina. O estudo de Nicholl e colaboradores (42) foi excluído, pois não forneceu valores numéricos e o de Mukhopadhyay et al. (40) porque apresentou os resultados em unidade que não pode ser convertidas por falta de acesso aos dados primários do estudo. A análise agrupada dos resultados não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Diferença de Média de Nível Sérico de Fosfatase Alcalina (UI/l): - 11,231 UI/l para LHO; IC 95%: -58,482 a 33,019 UI/l). O resultado foi mantido mesmo após a exclusão do estudo de Wauben e colaboradores (41), que suplementou o grupo controle com minerais. Vale ressaltar que Zuckerman et al. e Modanlou et al. (31,36) encontraram valores de fosfatase alcalina aumentados nos dois grupos, preenchendo critérios de doença óssea metabólica, e que nos outros três estudos todos os valores encontravam-se dentro da normalidade. Entretanto, os cinco estudos incluíram número pequeno de pacientes (menor que 15 por braço).

Na análise individual dos estudos não incluídos na metanálise, houve evidência de diferença apenas na dosagem sérica de fósforo no estudo de Wauben e colaboradores(41) (LHO: $2,43 \pm 0,15$; LHO: $2,22 \pm 0,18$; $p < 0,05$) e de fosfatase alcalina no estudo de Nicholl e colaboradores(42) (menor no grupo utilizando LHO, $p = 0,005$). Não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos níveis séricos de cálcio e fósforo nos estudos de Zuckerman et al, Pettifor et al e Nicholl et al(31,37), nos níveis séricos de cálcio no estudo de Wauben et al. (41) e nem nos níveis séricos de fosfatase alcalina no estudo de Mukhopadhyay et al.. (40) Todos os valores encontravam-se dentro dos padrões de normalidade.

Um estudo, de Bhat e colaboradores (32), avaliou a frequência de fósforo baixo e de fosfatase alcalina elevada e demonstrou vantagem na utilização de LH suplementado com aditivo multicomponente em relação ao LH puro (Fósforo baixo: 32% dos pacientes alimentados com LH puro comparado a nenhum paciente recebendo aditivos multicomponentes; $p < 0,01$. Fosfatase alcalina elevada: 60% contra 10% respectivamente; $p < 0,01$).

Óbito

Não foram identificados estudos que avaliassem esta variável.

Apenas dois ensaios clínicos forneceram informações sobre óbitos. O estudo de Martins e colaboradores (43) excluiu 23 dos 67 pacientes admitidos no período do estudo, sendo três por óbito. No estudo de Pettifor e colaboradores (37), que randomizou 100 prematuros, houve 41 perdas, sendo sete por óbitos. Entretanto não há maiores informações sobre o momento em que os óbitos ocorreram e nem a qual grupo pertenciam os pacientes.

6.2.4 Conclusão

A metanálise demonstrou vantagens em termos de crescimento em curto prazo com a utilização de LH suplementado com aditivos multicomponentes comparado ao LH puro na alimentação de prematuros, com IG de nascimento ≤ 34 semanas ou PN ≤ 1500 g.

Uma metanálise anterior, publicada por Kuschel et al.(8) pela Colaboração Cochrane, já havia encontrado resultados semelhantes em bebês um pouco maiores.

Embora a diferença de crescimento seja de pequena amplitude, qualquer estratégia capaz de diminuir a frequência e a gravidade da desnutrição pós-natal, principalmente quando permite a utilização de LH, é bem-vinda e deve ser utilizada. Além disso, a maioria dos estudos é anterior ao ano 2000, e os aditivos foram reformulados em vários momentos para melhor atender às necessidades dos prematuros menores. Por este motivo, especula-se que o efeito da intervenção possa ser ainda maior.

O risco de ECN foi baixo, mas por se tratar de um evento raro seria necessário número maior de estudos ou de pacientes para se chegar a uma conclusão mais definitiva.

Não houve diferença nos níveis séricos de cálcio, fosforo ou fosfatase alcalina entre os grupos, e na maioria dos estudos os valores estiveram dentro da normalidade para os dois grupos. Entretanto o efeito do aditivo na mineralização óssea uma questão que ainda precisa ser melhor investigada.

Tabela 5- Comparação 1: Resultado da metanálise comparando LH suplementado com aditivos ao LH puro

Resultado	Nº de estudos	Nº de participantes	Método Estatístico	Tamanho do efeito
Ganho de Peso (g/Kg/dia)	8	323	Diferença de Média (IC 95%)	3,179 (2,531; 3,828)
Ganho de Peso (g/dia)	4	95	Diferença de Média (IC 95%)	4,496 (3,750; 5,243)
Ganho de Comprimento (cm/sem)	9	319	Diferença de Média (IC 95%)	0,129 (0,096; 0,163)
Ganho de Perímetro Cefálico (cm/sem)	10	349	Diferença de Média (IC 95%)	0,081 (0,059; 0,104)
Crescimento em longo prazo	0	0	-	Não estimado
Desenvolvimento	0	0	-	Não estimado
Enterocolite Necrosante	5	238	Risco Relativo (IC 95%)	1,032 (0,458 ; 2,324)
Óbito	0	0	-	Não estimado
Nível Sérico de Cálcio (mg/dl)	4	208	Diferença de Média (IC 95%)	0,059 (- 0,106; 0,224)
Nível Sérico de Fósforo (mg/dl)	4	206	Diferença de Média (IC 95%)	0,047 (- 0,297; 0,391)
Nível Sérico de Fosfatase Alcalina (UI/l)	5	92	Diferença de Média (IC 95%)	- 11,231 (- 58,482; 36,019)

LH: leite humano

Tabela 6- Comparação 1: Resultado da metanálise comparando LH suplementado com aditivos ao LH puro, análise de sensibilidade

Resultado	No de estudos	No de participantes	Método Estatístico	Tamanho do efeito
Ganho de Peso (g/Kg/dia)	5	128	Diferença de Média (IC 95%)	3,892 (2,958; 4,827)
Ganho de Comprimento (cm/semana)	8	218	Diferença de Média (IC 95%)	0,102 (0,063; 0,140)
Ganho de Perímetro Cefálico (cm/semana)	8	168	Diferença de Média (IC 95%)	0,081(0,057; 0,106)
Enterocolite Necrosante	4	162	Risco Relativo (IC 95%)	1,024 (0,438; 2,396).
Nível Sérico de Cálcio (mg/dl)	3	52	Diferença de Média (IC 95%)	0,038 (- 0,240; 0,316)
Nível Sérico de Fósforo (mg/dl)	3	50	Diferença de Média (IC 95%)	0,213 (- 0,260; 0,686)
Nível Sérico de Fosfatase Alcalina (U/l)	4	67	Diferença de Média (IC 95%)	- 7,413 (- 68,326; 53,499)

LH: leite humano

6.2.5 Gráficos de metanálise

Gráfico 1 – Comparação 1: Taxa de Ganho de Peso (g/Kg/dia)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% weight
Mukhopadhyay	2.200	0.944	3.456	26.64
Nicholl	1.900	-2.453	6.253	2.22
Wauben	2.400	0.985	3.815	21.01
Kashyap	4.020	2.304	5.736	14.27
Polberger	5.100	1.950	8.250	4.24
Greer	3.890	2.532	5.248	22.78
Carey	5.700	2.658	8.742	4.54
Pettifor	2.600	-0.525	5.725	4.30
I-V pooled WMD	3.179	2.531	3.828	100.00

Heterogeneity chi-squared = 10.00 (d.f. = 7) p = 0.188

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 30.0%

Test of WMD=0 : z= 9.61 p = 0.000

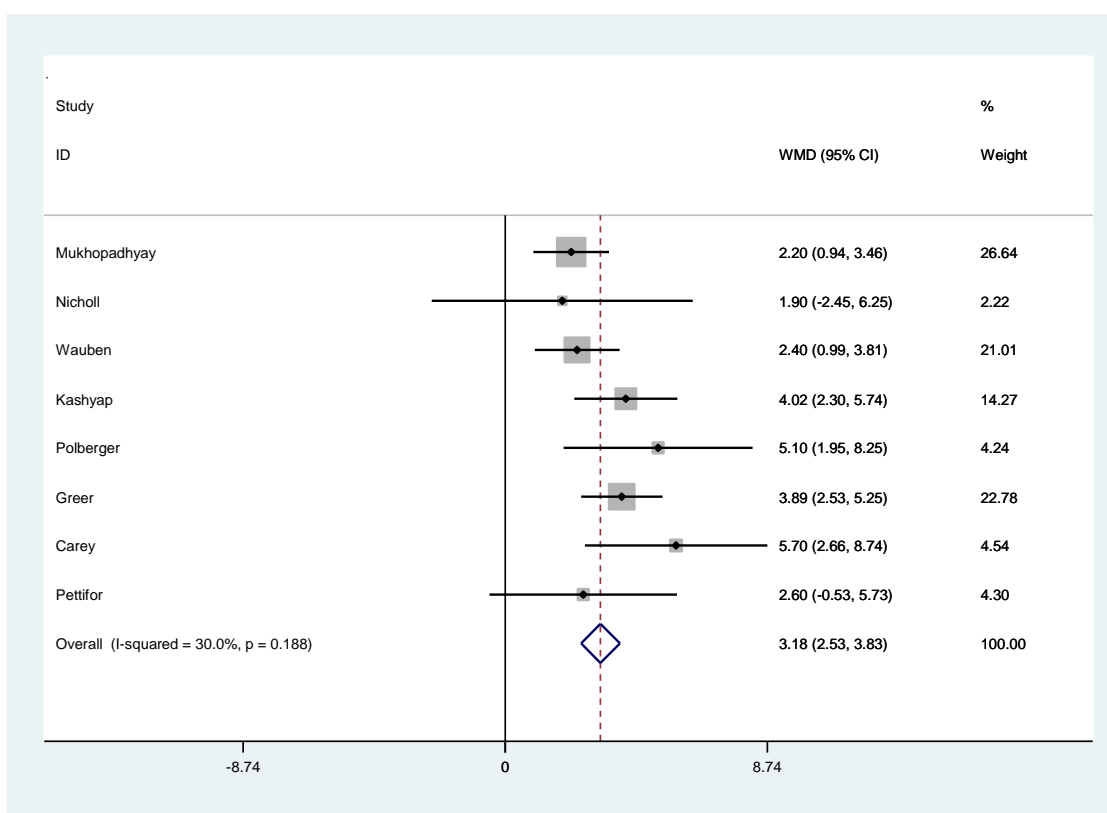


Gráfico 2 - Comparação 1: Taxa de Ganho de Peso (g/dia)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Martins	3.200	-0.240	6.640	4.71
Gross	1.000	0.001	1.999	55.80
Gross	10.300	9.036	11.564	34.90
Mondanlou	4.200	0.719	7.681	4.60
I-V pooled WMD	4.496	3.750	5.243	100.00

Heterogeneity chi-squared = **128.62** (d.f. = 3) p = **0.000**

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **97.7%**

Test of WMD=0 : z= **11.80** p = **0.000**

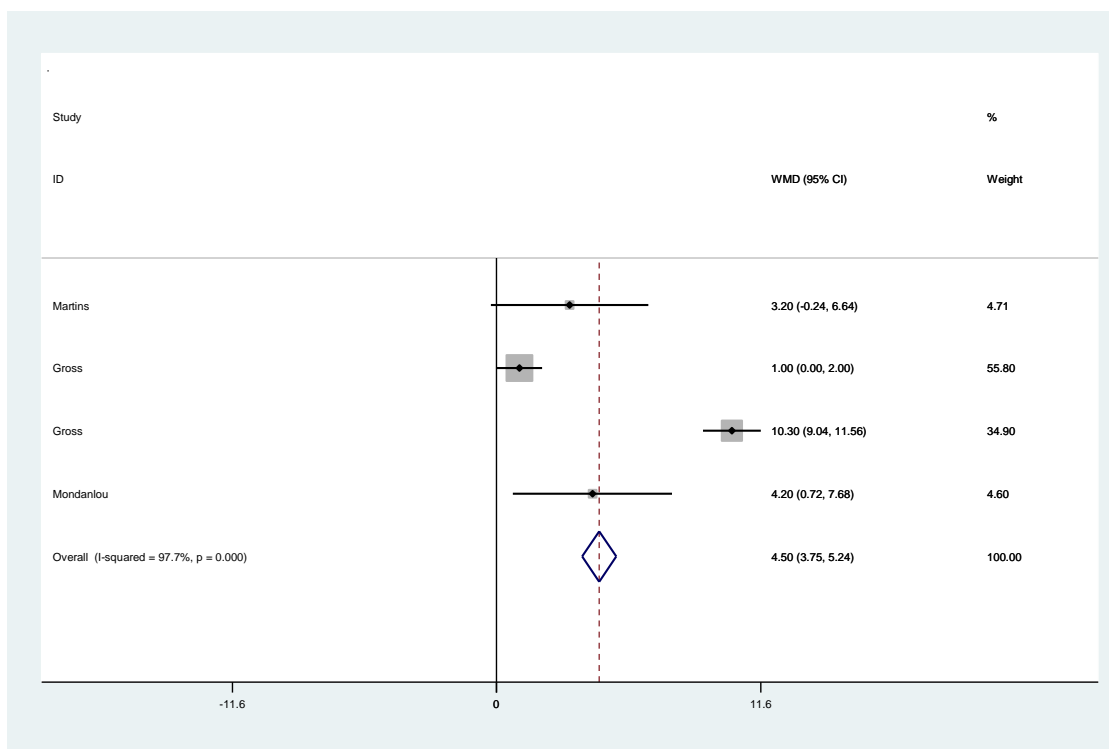


Gráfico 3– Comparação 1: Taxa de Crescimento Linear (cm/sem)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% weight
Martins	0.220	0.096	0.344	7.22
Mukhopadhyay	0.180	0.101	0.259	17.56
Wauben	0.200	0.043	0.357	4.50
Kashyap	0.360	-0.184	0.904	0.37
Polberger	0.370	0.192	0.548	3.50
Greer	0.360	0.154	0.566	2.61
Gross	0.080	0.023	0.137	33.97
Gross	0.070	0.009	0.131	29.53
Mondanlou	0.180	-0.209	0.569	0.73
I-V pooled WMD	0.129	0.096	0.163	100.00

Heterogeneity chi-squared = 23.44 (d.f. = 8) p = 0.003
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 65.9%

Test of WMD=0 : z= 7.61 p = 0.000

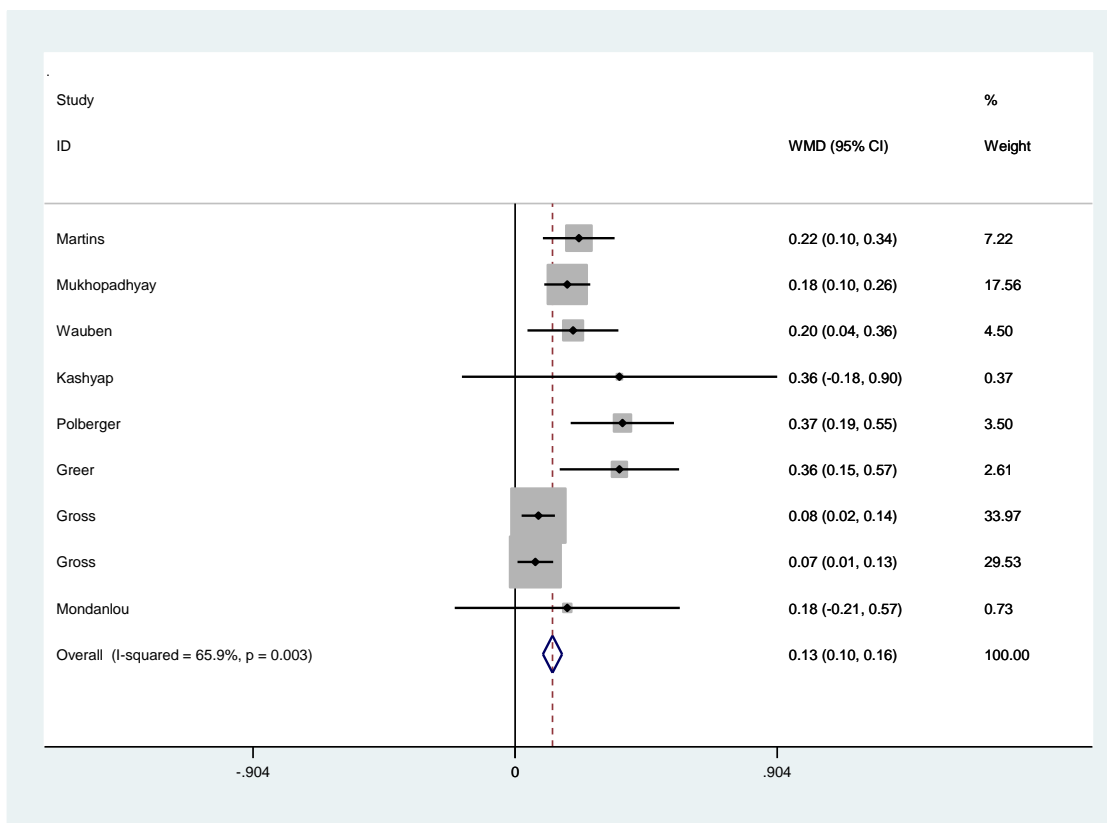


Gráfico 4– Comparação 1: Taxa de Crescimento do Perímetro Cefálico (cm/sem)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Martins	0.290	0.174	0.406	3.81
Mukhopadhyay	0.080	0.017	0.143	12.92
Wauben	0.100	-0.023	0.223	3.39
Kashyap	0.200	0.060	0.340	2.62
Polberger	0.170	-0.039	0.379	1.17
Greer	0.250	0.105	0.395	2.43
Gross	0.090	0.054	0.126	39.02
Gross	0.000	-0.040	0.040	32.16
Carey	0.500	0.140	0.860	0.39
Mondanlou	0.290	0.134	0.446	2.08
I-V pooled WMD	0.081	0.059	0.104	100.00

Heterogeneity chi-squared = **49.56** (d.f. = 9) $p = 0.000$
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **81.8%**

Test of WMD=0 : $z = 7.05$ $p = 0.000$

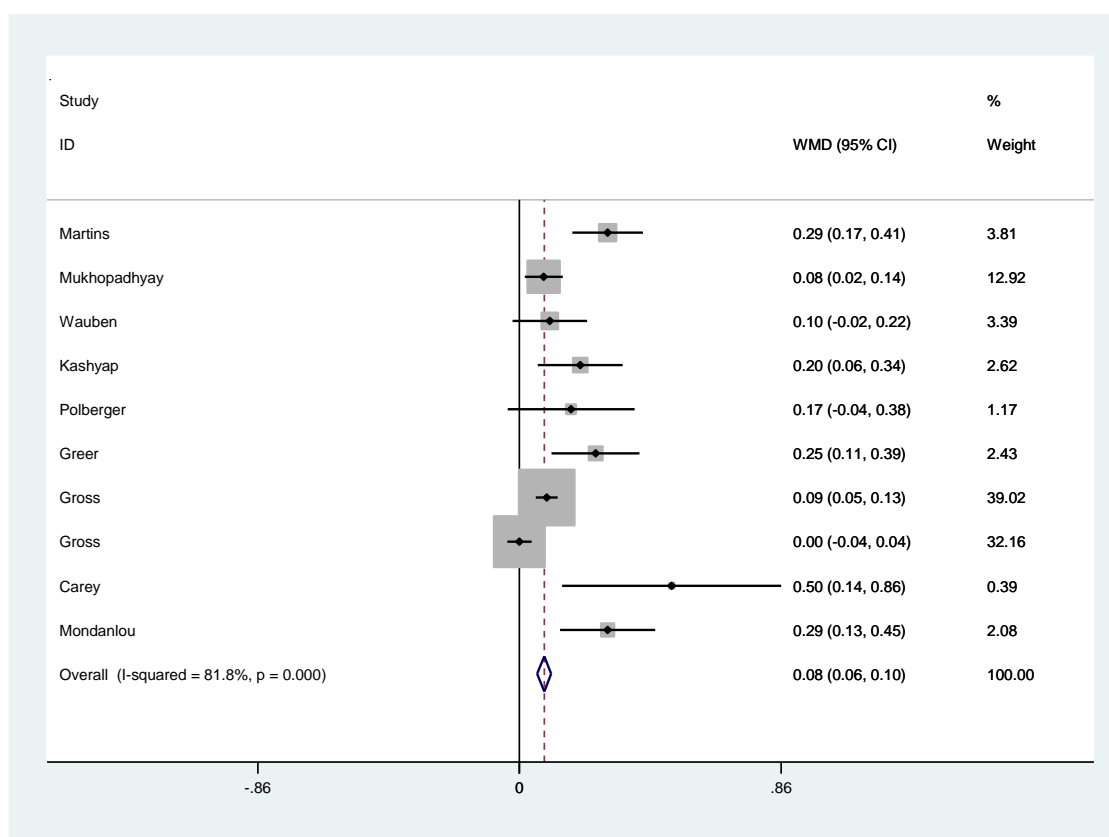


Gráfico 5– Comparação 1: Níveis Séricos de Cálcio (mg/dl)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]	% weight
Mukhopadhyay	0.070	-0.135 0.275	64.70
Greer	-0.100	-0.522 0.322	15.36
Carey	-0.200	-0.863 0.463	6.21
Mondanlou	0.300	-0.146 0.746	13.73
I-V pooled WMD	0.059	-0.106 0.224	100.00

Heterogeneity chi-squared = 2.27 (d.f. = 3) p = 0.519
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 0.0%

Test of WMD=0 : z= 0.70 p = 0.486

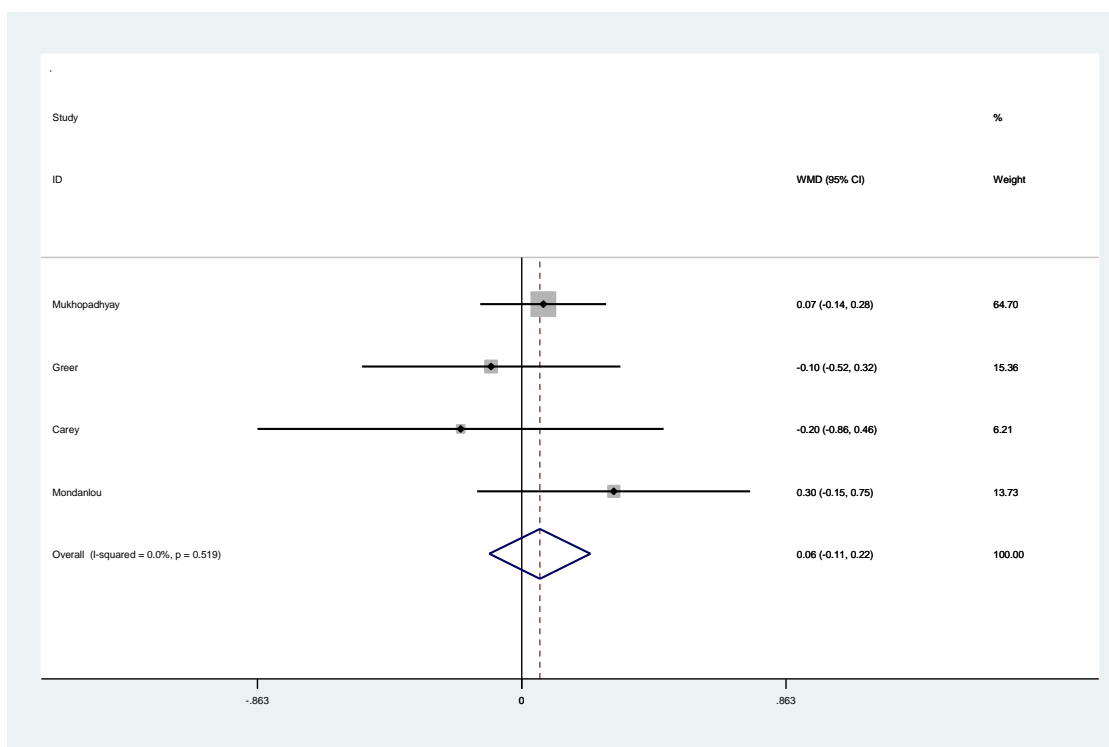


Gráfico 6 – Comparação 1: Níveis Séricos de Fósforo (mg/dl)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Mukhopadhyay	-0.140	-0.643	0.363	46.97
Greer	-0.030	-0.733	0.673	23.98
Carey	0.600	-0.440	1.640	10.96
Mondanlou	0.300	-0.510	1.110	18.09
I-V pooled WMD	0.047	-0.297	0.391	100.00

Heterogeneity chi-squared = 2.04 (d.f. = 3) p = 0.564

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 0.0%

Test of WMD=0 : z= 0.27 p = 0.789

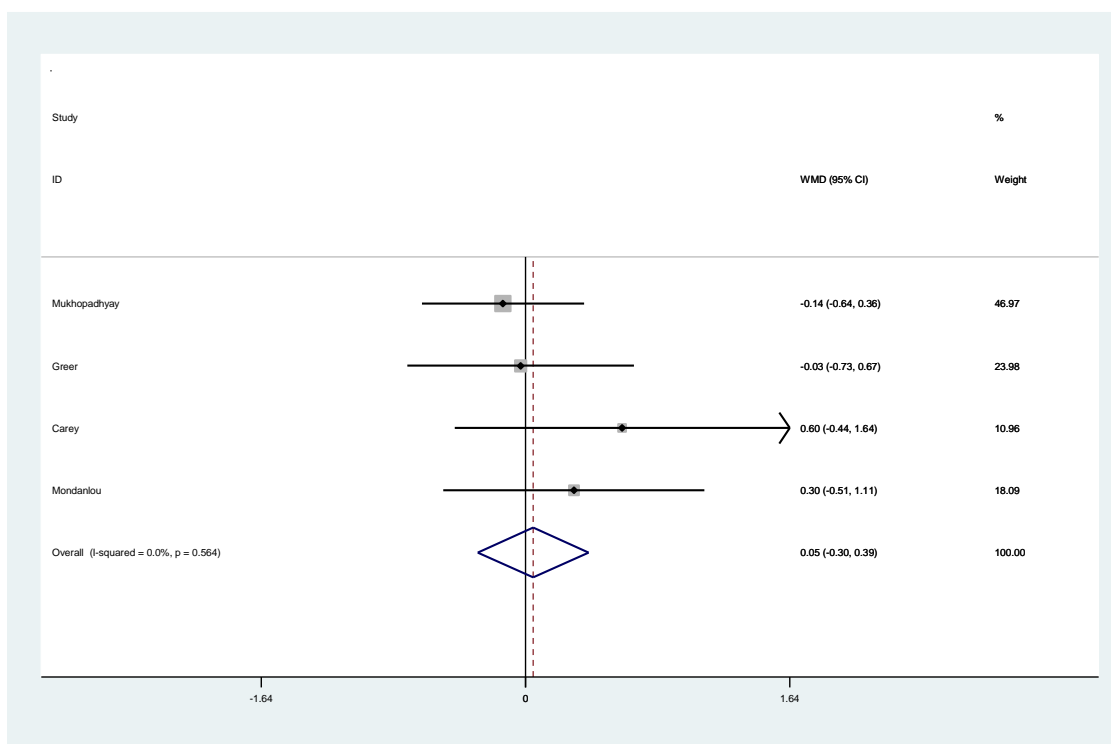


Gráfico 7– Comparação 1: Níveis Séricos de Fosfatase Alcalina (UI/l)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Wauben	-17.000	-91.871	57.871	39.83
Zuckerman	-443.000	-880.727	-5.273	1.17
Greer	64.000	-38.647	166.647	21.19
Carey	-19.000	-98.098	60.098	35.68
Mondanlou	-285.000	-608.498	38.498	2.13
I-V pooled WMD	-11.231	-58.482	36.019	100.00

Heterogeneity chi-squared = 8.61 (d.f. = 4) p = 0.072
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 53.6%

Test of WMD=0 : z= 0.47 p = 0.641

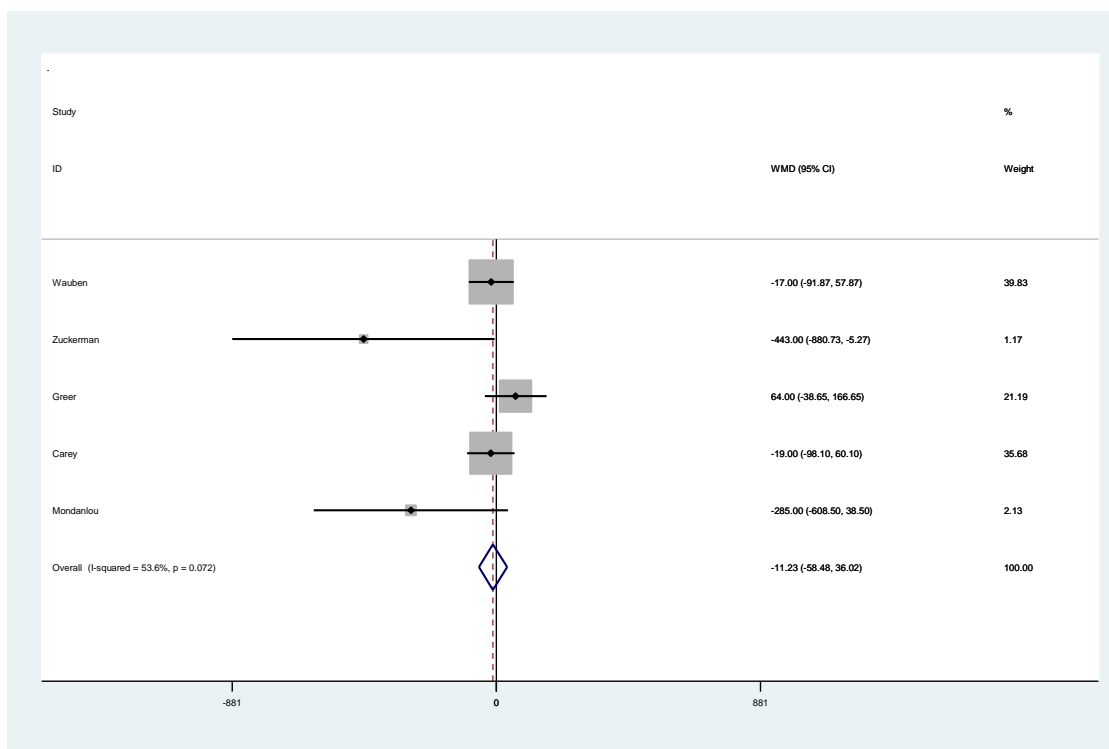


Gráfico 8- Comparação 1: Risco de Enterocolite Necrosante

Study	RR	[95% Conf. Interval]		% Weight
Bhat	0.623	0.157	2.477	47.56
Faerk	1.108	0.072	17.092	9.19
Zuckerman	0.900	0.065	12.380	10.20
Kashyap	1.063	0.250	4.518	28.19
Mondanlou	5.000	0.270	92.622	4.85
Mukhopadhyay	(Excluded)			
M-H pooled RR	1.032	0.458	2.324	100.00

Heterogeneity chi-squared = 1.65 (d.f. = 4) p = 0.800
 I-squared (variation in RR attributable to heterogeneity) = 0.0%

Test of RR=1 : z= 0.08 p = 0.940

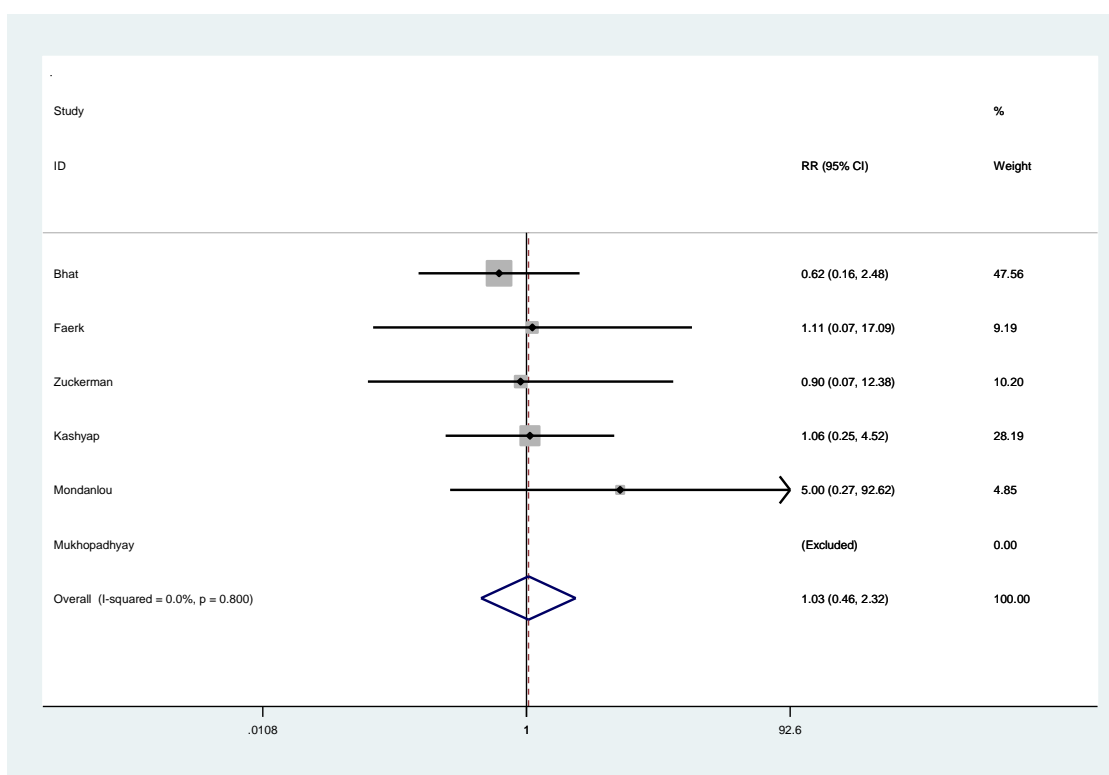


Gráfico 9- Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Taxa de Ganho de Peso (g/Kg/dia)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Nicholl	1.900	-2.453	6.253	4.61
Kashyap	4.020	2.304	5.736	29.66
Greer	3.890	2.532	5.248	47.34
Carey	5.700	2.658	8.742	9.44
Pettifor	2.600	-0.525	5.725	8.95
I-V pooled WMD	3.892	2.958	4.827	100.00

Heterogeneity chi-squared = **2.84** (d.f. = 4) p = **0.585**
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **0.0%**

Test of WMD=0 : z= **8.16** p = **0.000**

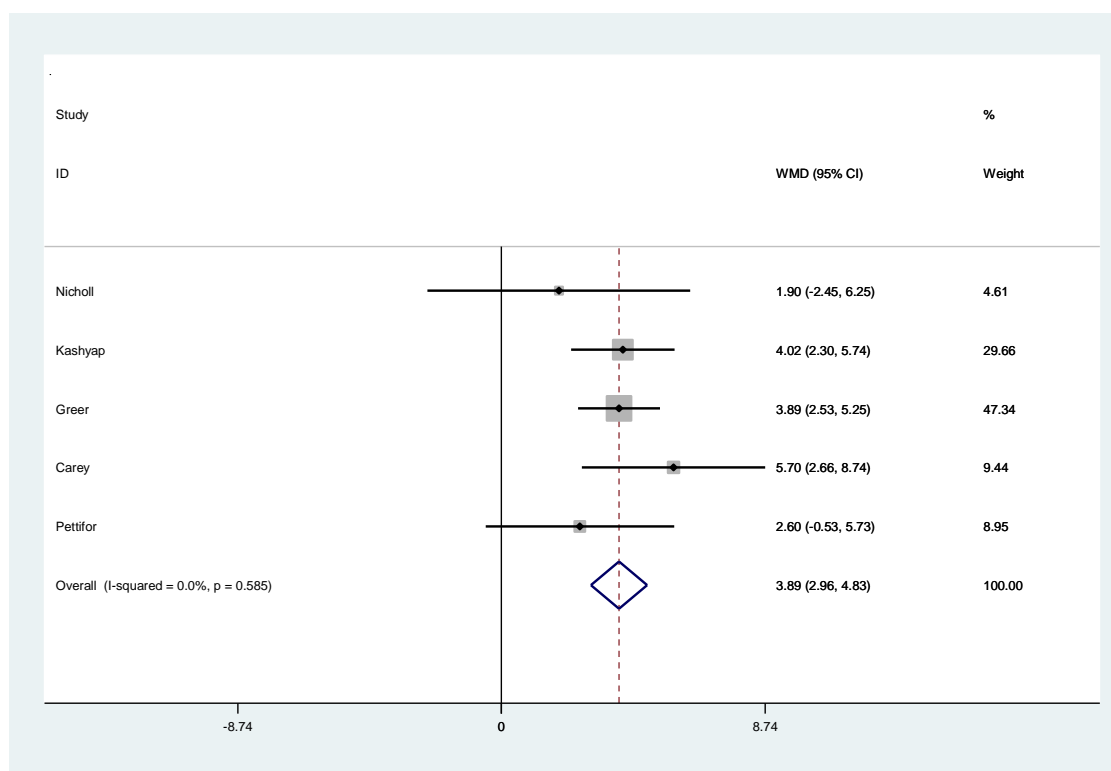


Gráfico 10- Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Taxa de Crescimento

Linear (cm/sem)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Martins	0.220	0.096	0.344	9.70
Kashyap	0.360	-0.184	0.904	0.50
Greer	0.360	0.154	0.566	3.51
Gross	0.080	0.023	0.137	45.63
Gross	0.070	0.009	0.131	39.67
Mondanlou	0.180	-0.209	0.569	0.99
I-V pooled WMD	0.102	0.063	0.140	100.00

Heterogeneity chi-squared = 12.14 (d.f. = 5) p = 0.033
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 58.8%

Test of WMD=0 : z= 5.17 p = 0.000

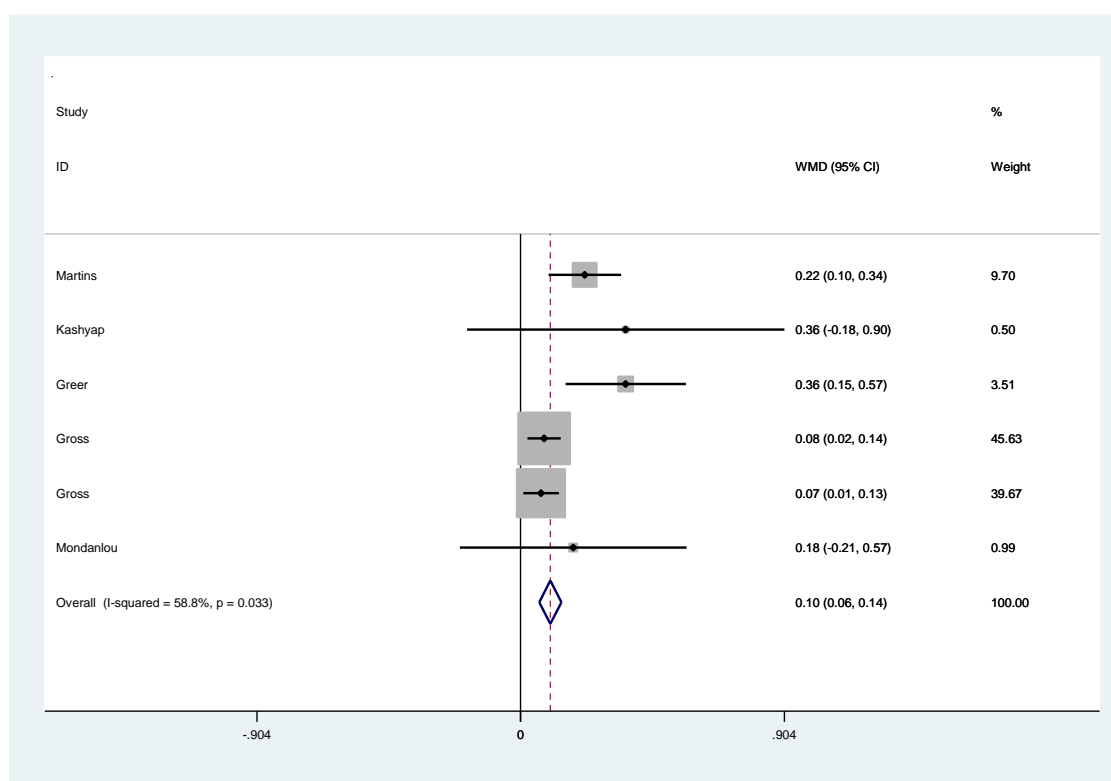


Gráfico 11 - Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Taxa de Crescimento do Perímetro Cefálico (cm/sem)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Martins	0.290	0.174	0.406	4.54
Kashyap	0.200	0.060	0.340	3.12
Polberger	0.170	-0.039	0.379	1.39
Greer	0.250	0.105	0.395	2.90
Gross	0.090	0.054	0.126	46.51
Gross	0.000	-0.040	0.040	38.33
Carey	0.500	0.140	0.860	0.47
Mondanlou	0.290	0.141	0.439	2.74
I-V pooled WMD	0.081	0.057	0.106	100.00

Heterogeneity chi-squared = 50.19 (d.f. = 7) p = 0.000

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 86.1%

Test of WMD=0 : z= 6.45 p = 0.000

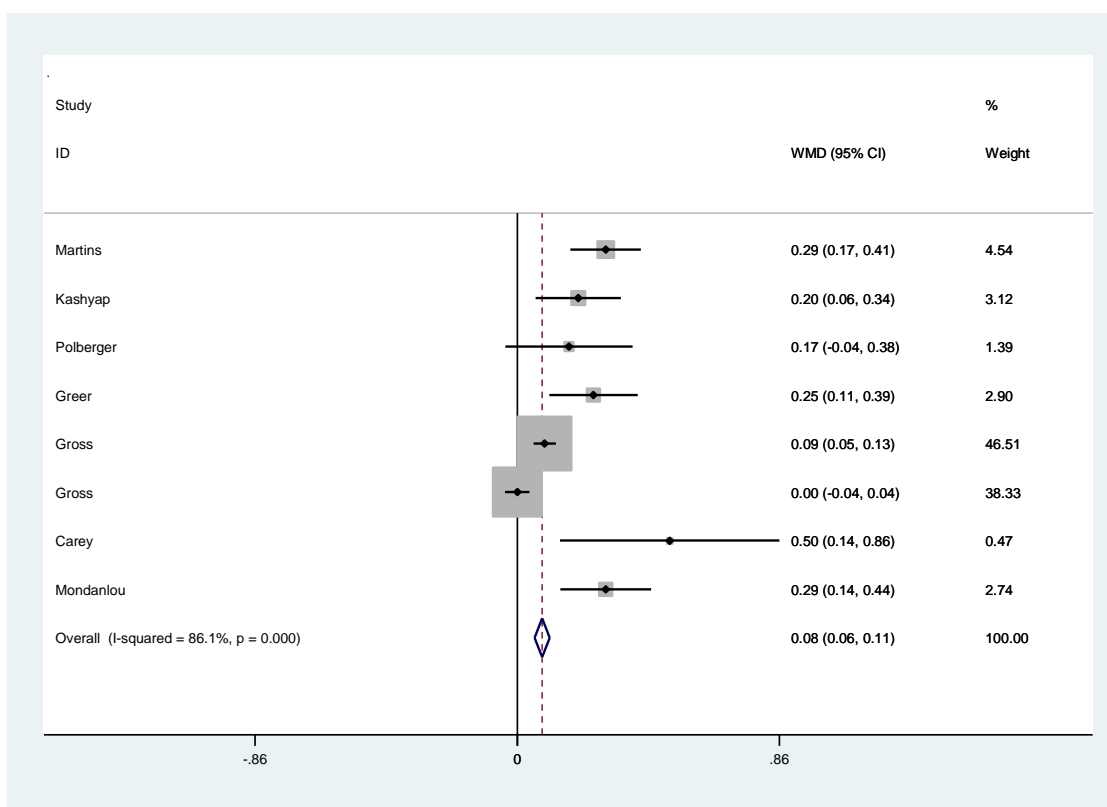


Gráfico 12 - Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Níveis Séricos de Cálcio (mg/dl)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Greer	-0.100	-0.522	0.322	43.51
Carey	-0.200	-0.863	0.463	17.58
Mondanlou	0.300	-0.146	0.746	38.91
I-V pooled WMD	0.038	-0.240	0.316	100.00

Heterogeneity chi-squared = 2.23 (d.f. = 2) p = 0.327
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 10.5%

Test of WMD=0 : z= 0.27 p = 0.788

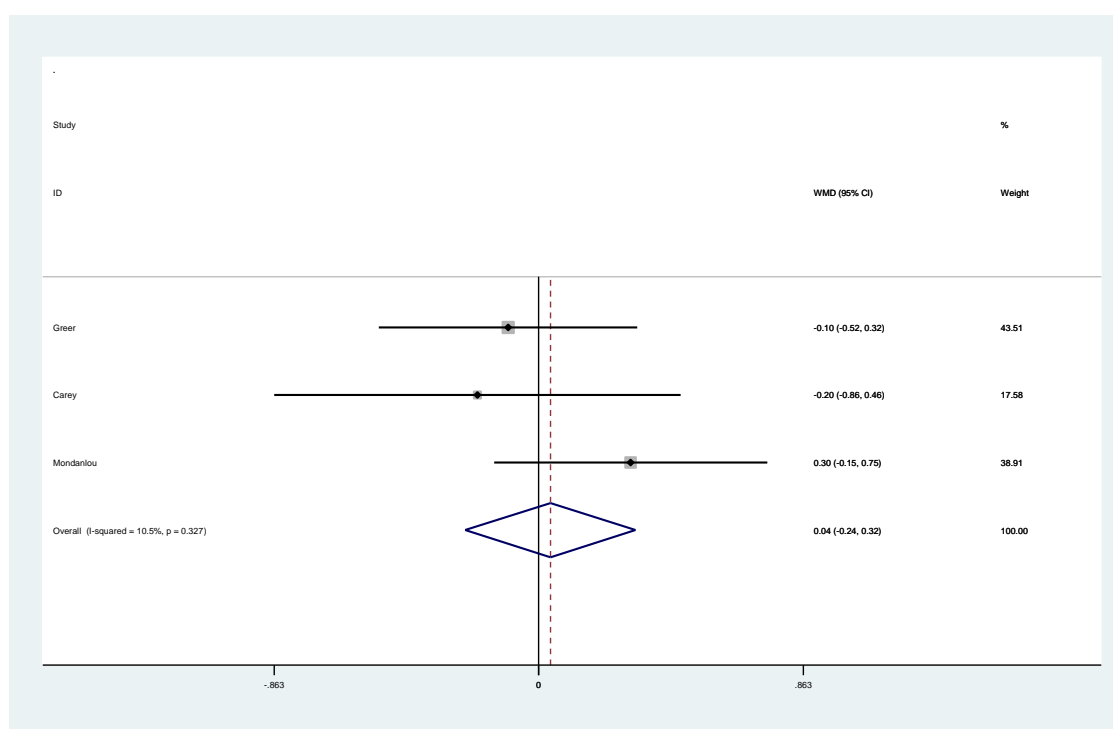


Gráfico 13- Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Níveis Séricos de Fósforo (mg/dl)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Greer	-0.030	-0.733	0.673	45.22
Carey	0.600	-0.440	1.640	20.67
Mondanlou	0.300	-0.510	1.110	34.11
I-V pooled WMD	0.213	-0.260	0.686	100.00

Heterogeneity chi-squared = **1.03** (d.f. = 2) p = **0.596**
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **0.0%**

Test of WMD=0 : z= **0.88** p = **0.378**

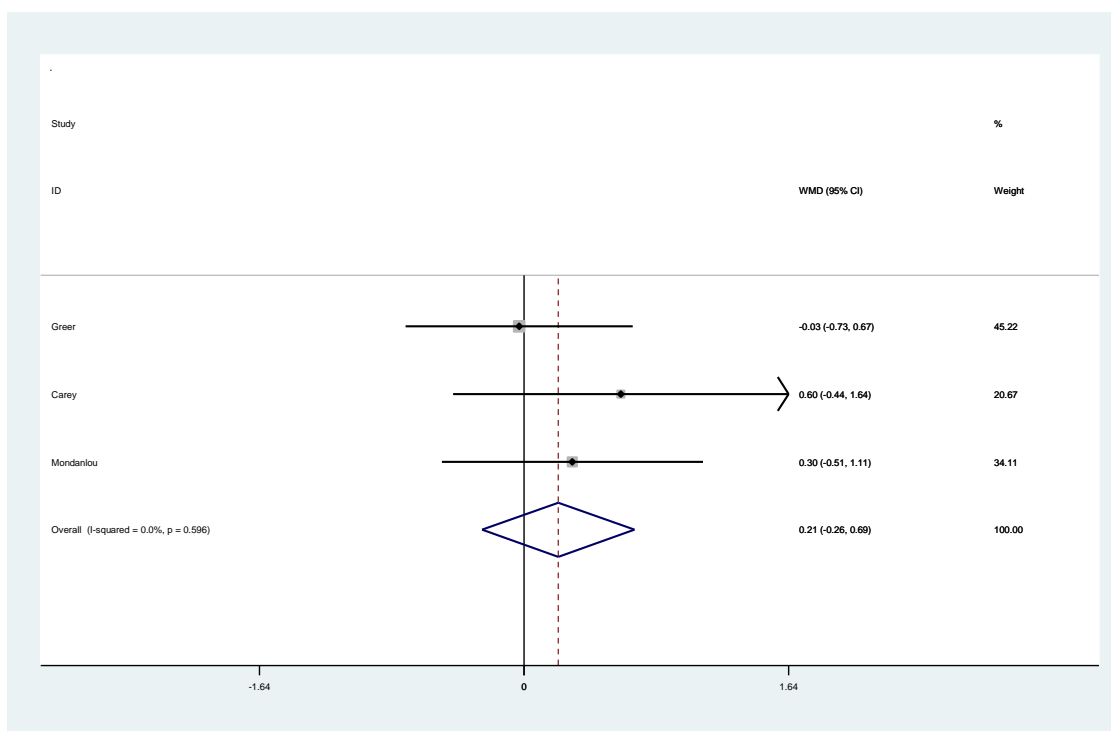


Gráfico 14 - Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Níveis Séricos de Fosfatase Alcalina (UI/l)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Zuckerman	-443.000	-880.727	-5.273	1.94
Greer	64.000	-38.647	166.647	35.21
Carey	-19.000	-98.098	60.098	59.30
Mondanlou	-285.000	-608.498	38.498	3.55
I-V pooled WMD	-7.413	-68.326	53.499	100.00

Heterogeneity chi-squared = **8.57** (d.f. = 3) p = **0.036**
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **65.0%**

Test of WMD=0 : z = **0.24** p = **0.811**

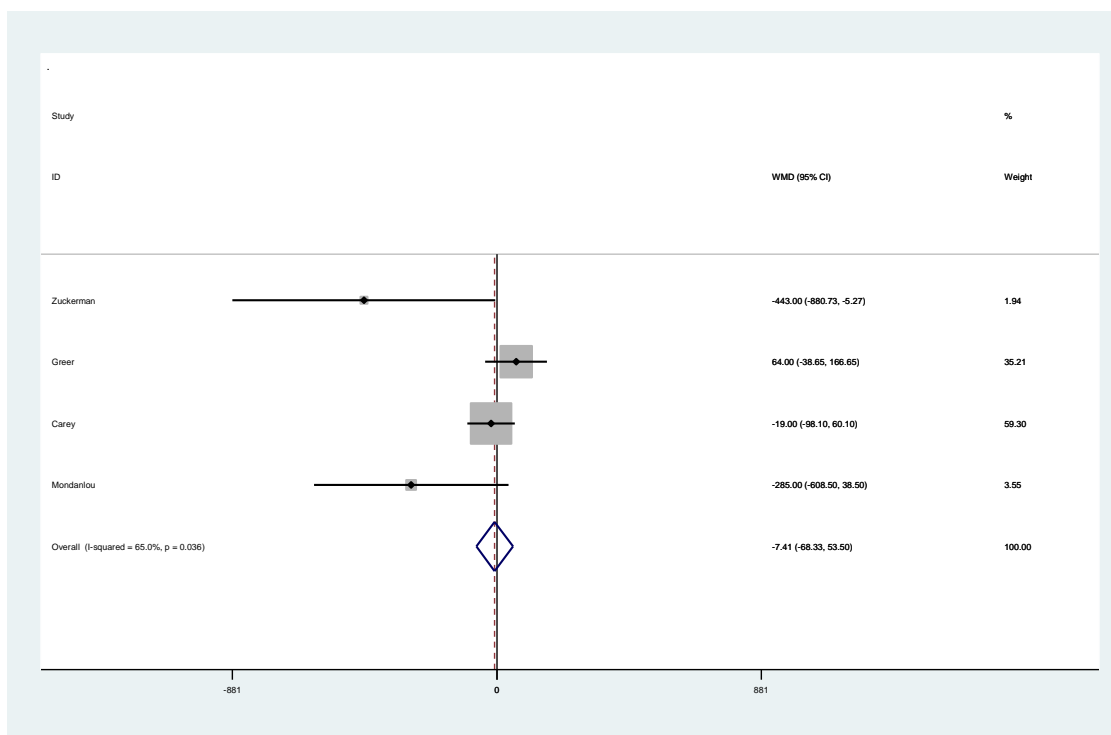
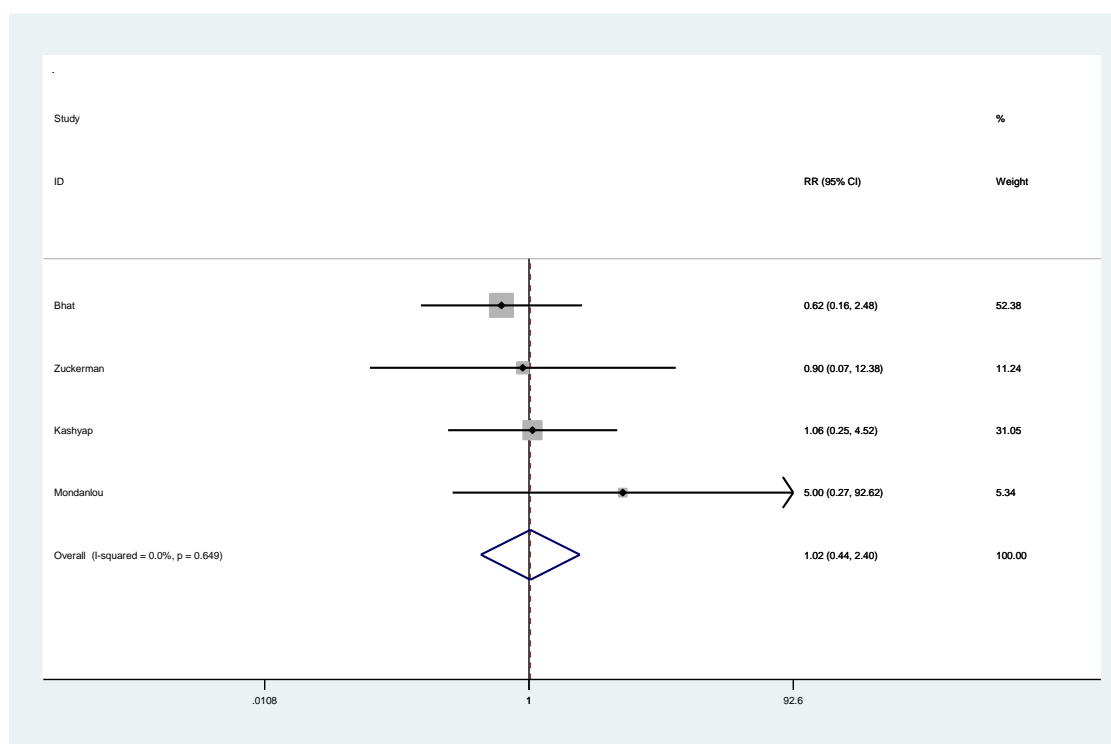


Gráfico 15- Comparação 1: Análise de Sensibilidade, Risco de Enterocolite Necrosante

Study	RR	[95% Conf. Interval]		% Weight
Bhat	0.623	0.157	2.477	52.38
Zuckerman	0.900	0.065	12.380	11.24
Kashyap	1.063	0.250	4.518	31.05
Mondanlou	5.000	0.270	92.622	5.34
M-H pooled RR	1.024	0.438	2.396	100.00

Heterogeneity chi-squared = **1.64** (d.f. = 3) p = **0.649**
 I-squared (variation in RR attributable to heterogeneity) = **0.0%**

Test of RR=1 : z= **0.05** p = **0.956**



6.3 Comparação 2: Leite humano suplementado com aditivo multicomponente x Fórmula para prematuro

6.3.1 Descrição dos estudos:

Considerando todos os desfechos estudados, foram incluídos oito ensaios clínicos (33,36,41,42,45–48), do qual participaram 298 pacientes. Destes, os estudos de Modanlou et al., Carey et al., Wauben et al. e Nicholl et al.(33,36,41,42) também foram incluídos na comparação entre LH puro e LH suplementado com aditivos multicomponentes, pois eram estudos com três braços (LH puro, com aditivos ou FP).

O tipo de aditivo utilizado variou. Apenas um estudo, de Schanler e colaboradores (49), utilizou um aditivo derivado de LH de banco de leite, e informou apenas que o aditivo era composto de proteínas, minerais e 50% da lactose do LH, sem fornecer maiores detalhes. Dois estudos, de Carey et al. e Modanlou et al.(33,36), não especificaram o aditivo utilizado, e os outros cinco autores (41,42,46–48) sim. Um estudo, de Doege e colaboradores (46), utilizou a combinação de um aditivo multicomponente pobre em fosfato com um suplemento de fosfato de sódio, neste estudo, a quantidade de fortificante adicionado ao LH variou em função do peso do RN e do volume de leite recebido, com objetivo de atingir um aporte proteico diário entre 3,5 e 4 g/Kg. A composição dos diferentes aditivos na época da realização dos estudos está descrita na

Tabela 7, o estudo de Carey et al. (33) foi o único a não especificar sua composição exata.

Todos os estudos utilizaram FP como comparador, as fórmulas variaram e suas composições estão descritas na Tabela 8.

Os critérios de inclusão foram variáveis, cinco estudos, de Modanlou, Carey, Mataloun, Schanler e Nicholl e colaboradores (33,36,42,48,49), utilizaram PN ≤ 1500 g e um estudo, de Doege e colaboradores (46), IG de nascimento menor que 28 semanas. Dois estudos, de Ehenkranz e Wauben (41,47), utilizaram pesos de nascimento maiores (até 1800g) sem pré-determinar a IG, estes estudos foram incluídos, pois todos os participantes apresentaram IG ≤ 34 semanas.

De modo geral, os estudos excluíram RN graves ou portadores de anomalias congênitas.

A maior parte dos estudos iniciou o aditivo quando os pacientes tolerassem um volume pré-definido de dieta, geralmente em torno de 100ml/kg/dia. A duração da maior parte deles foi até que os pacientes atingissem um peso específico (em torno de 1800g) ou IGC de 38 semanas, recebessem alta ou estivessem em aleitamento materno exclusivo por sucção ao seio materno.

Ehrenkranz e colaboradores, Carey e colaboradores e Schanler e colaboradores (33,47,49) realizaram estudos de balanço nutricional além de avaliação de medidas antropométricas, sendo que nos dois primeiros a análise de crescimento foi um desfecho secundário, enquanto Schanler e colaboradores (49) avaliaram como desfechos principais tanto medidas de crescimento quanto análises do balanço nutricional. O balanço nutricional não foi um desfecho de interesse nesta revisão e foi excluído.

As características dos estudos incluídos encontram-se na Tabela 9.

6.3.2 Risco de viés nos estudos incluídos

Apenas o estudo de Doege e colaboradores (46) incluiu mais de 20 pacientes por braço. Entre os outros setes estudos, apenas o de Mataloun e colaboradores (48) incluiu mais de 15 pacientes nos dois braços. O estudo de Nicholl e colaboradores (42) não foi bem balanceado, incluiu 29 pacientes no braço alimentado com fórmula e menos que 15 em cada um dos grupos utilizando LH.

Apenas os estudos de Doege, Mataloun, Nicholl e Wauben e colaboradores (41,42,46,48) incluíram cálculo do tamanho amostral como parte do seu desenho, sendo que o estudo de Nicholl e colaboradores (42) apresentou resultados para um número de pacientes menor que o programado no braço utilizando LH suplementado com aditivos.

Os estudos de Schanler et al., Ehrenkranz et al., Mataloun et al. e Doege et al. (46–49), que compararam apenas dois grupos (FP ou LH suplementado com aditivo), não foram randomizados por sua natureza. Os RN foram alocados para fórmula ou LH com aditivo na dependência do desejo de amamentar e disponibilidade de leite materno, seria antiético fazer de outra forma. Os outros quatro estudos (33,36,41,42) utilizaram alocação *quasi*-randomizada de pacientes, no qual randomizaram para leite materno puro ou com aditivo apenas os bebês cujas mães desejavam amamentar. Um terceiro braço utilizou FP e foi composto por pacientes cujas mães não desejaram ou não puderam amamentar.

Nenhum dos estudos foi cego.

Quase todos os estudos focaram em prematuros que estivessem em condições de saúde relativamente boas, e o estudo de Ehrenkranz e colaboradores

(47) não especifica os critérios de exclusão. RN portadores de malformações congênitas, alterações cromossômicas e/ou doenças de moderada ou alta gravidade não foram recrutados ou foram excluídos do resultado final, o que pode afetar o resultado da metanálise.

Apenas o estudo de Ehrenkranz e colaboradores (47) apresentou o resultado para todos os participantes, entretanto, este foi um estudo pequeno, em que não ocorreram perdas, e o autor não especifica se programou a análise por intenção de tratamento ou por protocolo. Os outros sete autores analisaram apenas os dados dos pacientes que completaram o estudo.

Entre os seis ensaios clínicos que avaliaram nível sérico de cálcio e fósforo, apenas três, de Carey, Modanlou, Scahner e colaboradores (33,36,49), avaliaram as unidades em gramas por decilitro, outros dois estudos, de Wauben, Doege e colaboradores (41,46) avaliaram cálcio e fósforo em mmol/litro. As unidades não puderam ser convertidas porque não tivemos acesso aos dados primários. Por este motivo, os dois foram excluídos da metanálise. Por fim, o estudo de Nicholl e colaboradores (42) não forneceu resultados numéricos para cálcio e fósforo e nem para fosfatase alcalina e também foi excluído da análise agrupada.

Tabela 7 – Comparação 2: Composição dos aditivos de leite humano

Estudo	Doege 2007	Mataloun 2004	Nicholl 1999	Wauben 1998
	LHOF (100ml +	LHOF (100ml +	HMF (1,5g: 50ml	HMF (4,4g:

	HMF + NaHPO ₄)	HMF)	LHO)	100ml LHO)
Nutriente				
Calorias (kcal)	74	85	5	-
Proteína (g)	2,4	2	0,35	0,37
Gordura (g)	4	3,8	-	3,47
Carboidrato (g)	7	10,6	1	
Cálcio (mg)	34	82	30	60
Fosfato (mg)	52	61	20	43,6
Sódio (mg)	62	42	3	0,24 (mmol)
Potássio (mg)	60	64	2	0,5 (mmol)
Cloretos (mg)	59	49	3,5	0,22 (mmol)
Ferro (mg)	0,1	0,9 – 1,5	-	-
Vitaminas	-	Sim	Sim	Sim
Estudo	Ehrenkranz 1989	Carey 1987	Modanlou 1986	Schanler 1985
Nutriente	HMF (3,8g: 100ml LH)	HMF (1,6g: 100ml LHO)	HMF (4 sachês: 100ml LHO)	LHOF (100ml + HMF humano)
Calorias (kcal)	14	NI	14	81 ± 2
Proteína (g)	0,7	Sim	0,7	NI
Gordura (g)	-	-	Traços	4 ± 2
Carboidrato (g)	2,8	-	2,7	NI
Cálcio (mg)	60	Sim	60	41 ± 3
Fosfato (mg)	33	Sim	33	19 ± 1
Sódio (mg)	0,3 (mEq)	-	7	23 ± 2
Potássio (mg)	0,4 (mEq)	-	17,7	65 ± 5
Cloretos (mg)	0,5 (mEq)	-	0,8	-
Ferro (mg)	-	-	-	-
Vitaminas	-	Não	NI	-
Nitrogênio (mg)	-	-	-	269 ± 16

LHO: leite humano ordenhado; LHOF: leite humano ordenhado fortificado; HMF: *human milk fortifier* (aditivo de LH); FP: fórmula para prematuro

Doege 2007: Protein 88® + Fosfato de Sódio; Mataloun 2004: FM 85®; Nicholl 1999: Nutriprem®; Wauben 1998: MNF®; Ehrenkranz 1989: não especificado (Laboratório Mead Jhonson®); Carey 1987: não especificado; Modanlou 1986: não especificado; Schanler 1985: HMF derivado de LH

Tabela 8 – Comparação 2: Composição de 100ml de fórmula para prematuro

Estudo	Doege	Mataloun	Nichol	Wauben
---------------	--------------	-----------------	---------------	---------------

Nutriente	2007	2004	1999[∞]	1998*
Calorias (kcal)	80	80	80	70
Proteína (g)	2,2	2,35	2,6	2
Gordura (g)	4,2	3,91	4,7	4,4
Carboidrato (g)	8,6	9,1	8,4	8,6
Cálcio (mg)	99	80	94	75
Fosfato (mg)	54	46	62	40
Sódio (mg)	34	29	70	32,2
Potássio (mg)	96	86	82	74,1
Cloretos (mg)	51	80	76	-
Ferro (mg)	1,2	1,2	1,6	NI
Vitaminas	NI	Sim	Sim	NI

Estudo	Ehrenkranz	Carey	Modanlou	Schanler
Nutriente	1989	1987[‡]	1986[£]	1985
Calorias (kcal)	81	70	72	78 ± 2
Proteína (g)	2,4	1,83	NI	NI
Gordura (g)	4,1	3,67	2,7	4,2 ± 0,1
Carboidrato (g)	8,9	7,17	7,4	-
Cálcio (mg)	95	110	NI	61 ± 2
Fosfato (mg)	48	60	NI	49 ± 2
Sódio (mg)	1,4 (mEq)	NI	NI	28 ± 1
Potássio (mg)	2,3 (mEq)	NI	NI	96 ± 3
Cloretos (mg)	1,9 (mEq)	NI	NI	-
Ferro (mg)	NI	NI	NI	NI
Vitaminas	Sim	NI	NI	NI
Nitrogênio (mg)	-	-	310	295 ± 13

LHO: leite humano ordenhado; LHO^F: leite humano ordenhado fortificado; HMF: *human milk fortifier* (aditivo de LH); FP: fórmula para prematuro

Doege 2007: Beba FGN® (Nestlé®); Mataloun 2004: Pré Nan® (Nestlé®); Nicholl 1999: Nutriprem®; Wauben 1998: Preemie SMA® (Wyeth®); Ehrenkranz 1989: Enfamil Premature Formula®; Carey 1987: Similac Special Care®; Modanlou 1986: Enfamil Premature Formula®; Schanler 1985: Similac®.

[∞] Apresentação em 2014. Disponível em [http://www.cowandgate.co.uk/products/baby-milk/special-milk\(50\)](http://www.cowandgate.co.uk/products/baby-milk/special-milk(50))

* Rosalinda T. Laguna et al.(51)

‡Barrington, MB 1988(51)

£Galeano N. et al 1987(52)

Tabela 9 – Comparação 2: Característica dos estudos incluídos

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Doege 2007	EC, não randomizado, IG < 28 semanas - 60 LHOFF (Protein 88® + Fosfato de Sódio) - 60 FP (Beba FGN®)	Não randomizado pela natureza do estudo	- Peso final (cm) - C final (cm) - PC final (cm) - Dosagem de Ca, PO4, FA	Não	Não	PP	80/200 (40%)	Sim (45/grupo)
Mataloun 2004	EC, não randomizado, PN < 1500g 18 LHOFF (FM 85®) 24 FP (Pré nan®)	Não randomizado pela natureza do estudo	- Ganho de peso (g/Kg/d) - C final (cm) - PC final (cm) - ECN (n)	Não	Não	PP	NI	Sim (18/grupo)

Tabela 9 – Comparação 2: Característica dos estudos incluídos, continuação

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Nicholl 1999	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN < 1500g - 13 LHO (NE) - 10 LHO - 29 FP	Envelopes selados (só para os que puderam/quiser amamentar)	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Dosagem de Ca, PO ₄ , FA	Não	Aberto	NI	NI	Sim (15/grupo)
Wauben 1998	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN < 1800g (IG foi ≤ 34 sem) - 12 LHO (MNF-Wyeth®) - 13 LHO (com Ca e F) - 12 FP (Premie SMA Wyeth®)	NI, apenas informa ser em bloco	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - Crescimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca, PO ₄ , FA	NI	Aberto pela natureza do fortificante e pelo desejo/capacidade para amamentar	PP	7/37 (18,9%)	Sim (12/grupo)

Tabela 9 – Comparação 2: Característica dos estudos incluídos, continuação

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Ehrenkranz 1989	EC, não randomizado, 1 centro, PN < 1600g (IG foi ≤ 34 sem) - 6 LHO (Mead Jhonson®) - 7 FP (Enfamil®)	Não randomizado pela natureza do estudo	- Ganho de peso (g/Kg/d)	Não	Não	Todos os participantes, porém não houve perdas	Não	NI
Carey 1987	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN ≤ 1500g - 6 LHO (NE) - 9 LHO - 7 FP (Similac Special Care®)	NI (mas só para entre os que decidiram amamentar)	- Ganho de peso (g/Kg/dia) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca e FA OBS : Estudo original desenhado para balanço metabólico, não deu certo, publicaram desfechos secundários	Não	NI	PP	NI	NI

Tabela 9 – Comparação 2: Característica dos estudos incluídos, continuação

Estudo	Desenho / Comparadores	Método de Randomização	Desfechos	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Modanlou 1986	EC <i>quasi</i> -randomizado, 1 centro, PN ≤ 1500g - 8 LHOF (NE) - 10 LHO - 12 FP (Enfamil®)	NI (mas só para entre os que decidiram amamentar)	- Ganho de peso (g/dia) - Comprimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem Ca, PO4, FA - ECN (n) Obs: ECN não foi um desfecho do estudo, mas foi relatado e entrou na MA	Não	NI	PP	23/53 (43,3%)	Não
Schanler 1985	EC, não randomizado, 1 centro, PN ≤ 1500g 14 LHOF (de leite humano de BLH) 10 FP (Similac®)	Não randomizado pela natureza do estudo	- Ganho de peso (g/Kg/d) - Comprimento (cm/sem) - PC (cm/sem) - Dosagem de Ca e PO4	Não	Não	PP	5/34 (14%)	NI

EC: ensaio clínico; PN: peso de nascimento; LHOF: leite materno humano ordenhado fortificado; LHO: leite humano ordenhado; FP: fórmula para prematuro; IG: idade gestacional; PC: perímetro cefálico; NI: não informado; NE: não especificado; Ca: cálcio; PO4: fósforo; FA: fosfatase alcalina, ITT: análise por intenção de tratamento (*intention to treat*); PP: análise por protocolo

6.3.3 Efeitos da Intervenção

Considerando todos os desfechos, foram analisados oito estudos e um total de 298 RN, os resultados da metanálise estão descritos na Tabela 10.

Crescimento em curto prazo

Sete dos oito estudos incluídos avaliaram crescimento em curto prazo. Destes, seis analisaram taxa de ganho de peso (33,41,42,47–49), sendo que um, de Mataloun et al(48) foi excluído da análise agrupada por não fornecer dados suficientes, mas informou que não houve de diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p>0,05$). Por fim, cinco (33,41,42,47,49), quatro (33,41,42,49) e três (41,42,49) estudos foram incluídos nas análises agrupadas de taxa de ganho de peso, comprimento e PC respectivamente, com 115, 80 e 68 prematuros.

A análise global dos resultados não demonstrou evidência de diferença estatisticamente significativa entre o ganho de peso dos pacientes alimentados com LH fortificado comparado àqueles alimentados com FP (Diferença de Média: - 0,455 g/Kg/dia; IC 95%: - 1,534 a 0,624 g/Kg/d). Nenhum ensaio clínico comparou o ganho de peso em gramas por dia entre RN alimentados com LH fortificado ou FP.

Prematuros recebendo LHOE demonstraram menor crescimento linear na análise agrupada que aqueles alimentados com FP (Diferença de Média: - 0,256 cm/sem; IC 95%: - 0,333 a - 0,183 cm/sem).

Embora o crescimento do PC tenha sido menor nos prematuros alimentados LH suplementado com aditivos comparado àqueles alimentados com FP, a diferença não foi estatisticamente significativa (DM: -0,054 cm/sem; IC 95%: -0,112 a 0,004).

Crescimento em longo prazo

Não foram identificados estudos que avaliassem esta variável.

Desenvolvimento

Não foram identificados estudos que avaliassem esta variável.

Enterocolite Necrosante

Três estudos, incluindo 182 RN, compararam a incidência de enterocolite necrosante entre os pacientes que utilizaram LH fortificado com aditivos multicomponentes e FP. O maior destes ensaios clínicos, realizado por Doege e colaboradores (46), foi excluído da análise global, pois não houve casos de enterocolite em nenhum dos grupos. A análise agrupada dos outros dois estudos (36,48), com 62 pacientes, não demonstrou diferença estatisticamente significativa no risco de ECN nos pacientes recebendo aditivo de LH (RR: 4,846; IC 95%: 0,574 a 40,918), entretanto, além do número total de pacientes ser pequeno, a enterocolite foi um evento raro nos dois grupos, o que pode interferir no resultado final.

Níveis Séricos de Cálcio, Fósforo e Fosfatase Alcalina

Cinco ensaios clínicos (33,36,41,46,49) avaliaram nível sérico de cálcio e fósforo. Entretanto, enquanto os estudos de Carey, Modanlou, Scahnler e colaboradores (33,36,49) avaliaram as unidades em gramas por decilitro, os outros dois estudos, de Wauben et al. e Doege et al (41,46), avaliaram cálcio e fósforo em mmol/litro. As unidades não puderam ser convertidas porque não tivemos acesso aos dados primários, por este motivo, os dois foram excluídos da metanálise.

Desta forma, apenas três ensaios clínicos participaram da metanálise, tanto na avaliação dos níveis séricos de cálcio quanto de fósforo. Os níveis de cálcio sérico foram maiores no grupo alimentado com LH fortificado que no grupo alimentado com FP (Diferença de Média de Nível Sérico de Cálcio: 0,513 mg/dl; IC 95%: 0,399 a 0,627 mg/dl) e os de fósforo menores (Diferença de Média de Nível Sérico de Fósforo: -1,683 mg/dl; IC 95%: - 1,883 a - 1,503 mg/dl). Entretanto os valores encontram-se dentro da normalidade para os dois parâmetros em todos os estudos.

Quatro estudos foram incluídos na análise agrupada dos níveis séricos de fosfatase alcalina. A metanálise demonstrou níveis séricos de fosfatase alcalina ligeiramente maiores nos pacientes alimentados com LH com aditivo do que naqueles alimentados com fórmula pra prematuro(Diferença de Média de Nível Sérico de Fosfatase Alcalina (UI/l): 29,043 UI/l; IC 95%: 2,278 a 55,808 UI/l). Vale ressaltar que no maior estudo, de Doege e colaboradores(46), que incluiu 60 pacientes em cada braço, os valores de fosfatase alcalina encontram-se muito próximos da normalidade nos dois grupos, sem diferença entre os grupos. Os outros três ensaios clínicos, de Wauben, Carey, Modanlou e colaboradores (33,36,41), incluíram pequeno número de pacientes, sendo que apenas no estudo de Modanlou

e colaboradores (36) os níveis séricos de fosfatase alcalina estavam elevados, compatíveis com doença óssea metabólica.

Na análise individual dos dois estudos não incluídos na metanálise, os valores de cálcio e fósforo foram normais nos dois grupos.

Apenas um estudo, de Mataloun e colaboradores (48), avaliou a frequência de doença óssea metabólica e não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (33,3% para LH fortificado contra 6% para fórmula, $p=0,12$).

Óbito

Não foram identificados estudos que avaliassem esta variável.

6.3.4 Conclusão

A metanálise demonstra não haver evidência de diferença no ganho de peso ou no crescimento do PC entre a utilização de FP ou LH suplementado com aditivos em recém nascidos de muito baixo peso ao nascer ou com IG de nascimento ≤ 34 semanas. Isso pode ser considerado uma vantagem para a utilização do LH suplementado com aditivos multicomponentes uma vez que já se sabe que RN alimentados com fórmula apresentam ganho de peso maior e mais próximo ao crescimento intrauterino que aqueles alimentados com LH. (8–12,21) O crescimento linear foi maior nos RN alimentados com fórmula que naqueles alimentados com LH fortificado.

Embora tenham sido encontradas diferenças entre os grupos nos níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, os valores foram normais para os três parâmetros, nos dois grupos, na maioria dos estudos. Apenas um estudo demonstrou níveis séricos elevados de fosfatase alcalina nos dois grupos, sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Além disso, o único estudo que avaliou a incidência de doença óssea metabólica (48) não demonstrou evidência de diferença estatística entre os grupos. Este é um tópico que merece maior investigação.

Já está bem estabelecido um maior risco de ECN em prematuros alimentados com fórmula que naqueles alimentados com LH. (6,13) Embora a metanálise não tenha demonstrado diferença estatisticamente significativa entre os grupos no risco de ECN, este foi um evento raro, o que pode ter influenciado o resultado.

Tabela 10- Comparação 2: Resultado da metanálise comparando LH suplementado com aditivos à FP

Resultado	Nº de estudos	Nº de participantes	Método Estatístico	Tamanho do efeito
Ganho de Peso (g/Kg/dia)	5	115	Diferença de Média (IC 95%)	-0,455 (-1,534; 0,624)
Ganho de Comprimento (cm/sem)	3	68	Diferença de Média (IC 95%)	- 0,256 (- 0,333; - 0,183)
Ganho de Perímetro Cefálico (cm/sem)	4	80	Diferença de Média (IC 95%)	-0,054 (-0,112 ; 0,004)
Crescimento em longo prazo	0	0	-	Não estimado
Desenvolvimento	0	0	-	Não estimado
Enterocolite necrosante	2	62	Risco Relativo (IC 95%)	4,856 (0,574 ; 40,918)
Óbito	0	0	-	Não estimado
Nível Sérico de Cálcio (mg/dl)	3	56	Diferença de Média (IC 95%)	0,513 ; (0,399; 0,627)
Nível Sérico de Fósforo (mg/dl)	3	55	Diferença de Média (IC 95%)	-1,693 (- 1,883; -1,503)
Nível Sérico de Fosfatase Alcalina (U/l)	4	176	Diferença de Média (IC 95%)	29,043 (2,278; 55,808)

LH: leite humano

6.3.5 Gráficos de Metanálise

Gráfico 16- Comparação 2: Taxa de Ganho de Peso (g/Kg/dia)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Wauben	0.500	-1.374	2.374	33.17
Ehrenkranz	0.400	-6.485	7.285	2.46
Carey	1.800	-0.686	4.286	18.85
Schanler A e B	-1.000	-2.932	0.932	31.22
Nicholl	-4.600	-7.454	-1.746	14.30
I-V pooled WMD	-0.455	-1.534	0.624	100.00

Heterogeneity chi-squared = **12.63** (d.f. = 4) p = **0.013**

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **68.3%**

Test of WMD=0 : z= **0.83** p = **0.409**

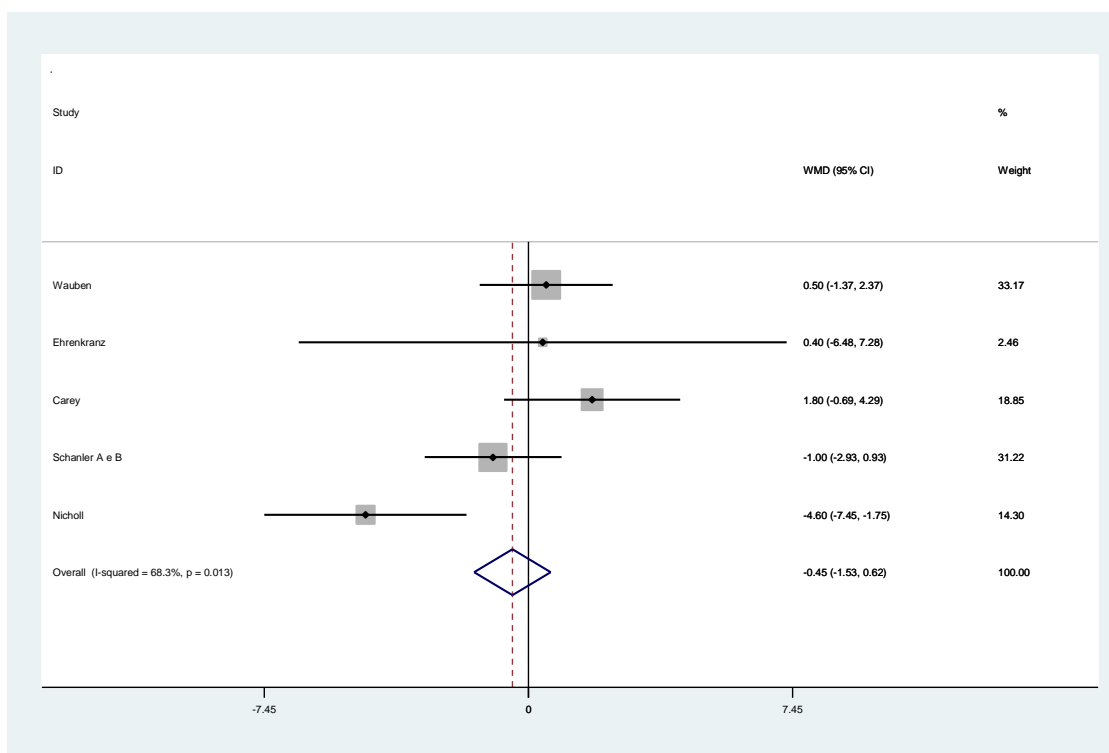


Gráfico 17-Comparação 2: Taxa de Crescimento Linear (cm/sem)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% weight
Wauben	0.000	-0.204	0.204	12.95
Schanler A e B	-0.300	-0.381	-0.219	81.85
Mondanlou	-0.210	-0.532	0.112	5.20
I-V pooled WMD	-0.256	-0.330	-0.183	100.00

Heterogeneity chi-squared = 7.26 (d.f. = 2) p = 0.027

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 72.4%

Test of WMD=0 : z= 6.85 p = 0.000

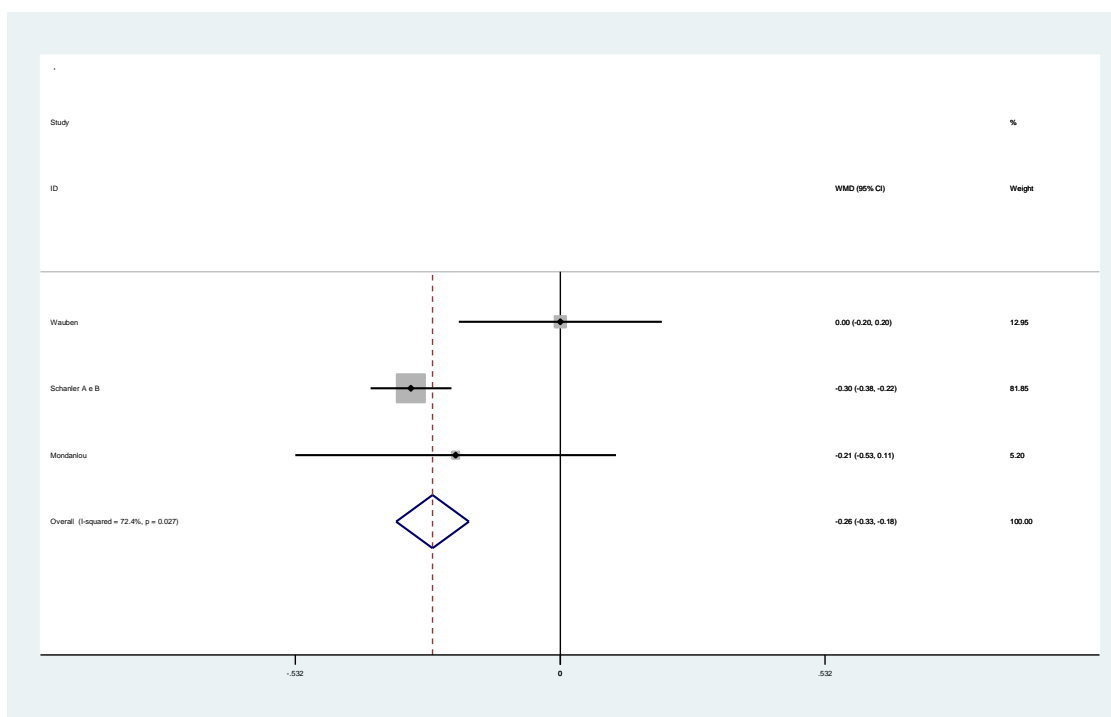


Gráfico 18- Comparação 2: Taxa de Crescimento de Perímetro Cefálico (cm/sem)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Wauben	0.000	-0.080	0.080	52.73
Carey	0.000	-0.279	0.279	4.35
Mondanlou	-0.070	-0.188	0.048	24.27
Schanler A e B	-0.200	-0.335	-0.065	18.64
I-V pooled WMD	-0.054	-0.112	0.004	100.00

Heterogeneity chi-squared = **6.49** (d.f. = 3) p = **0.090**
 I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **53.7%**

Test of WMD=0 : z= **1.83** p = **0.067**

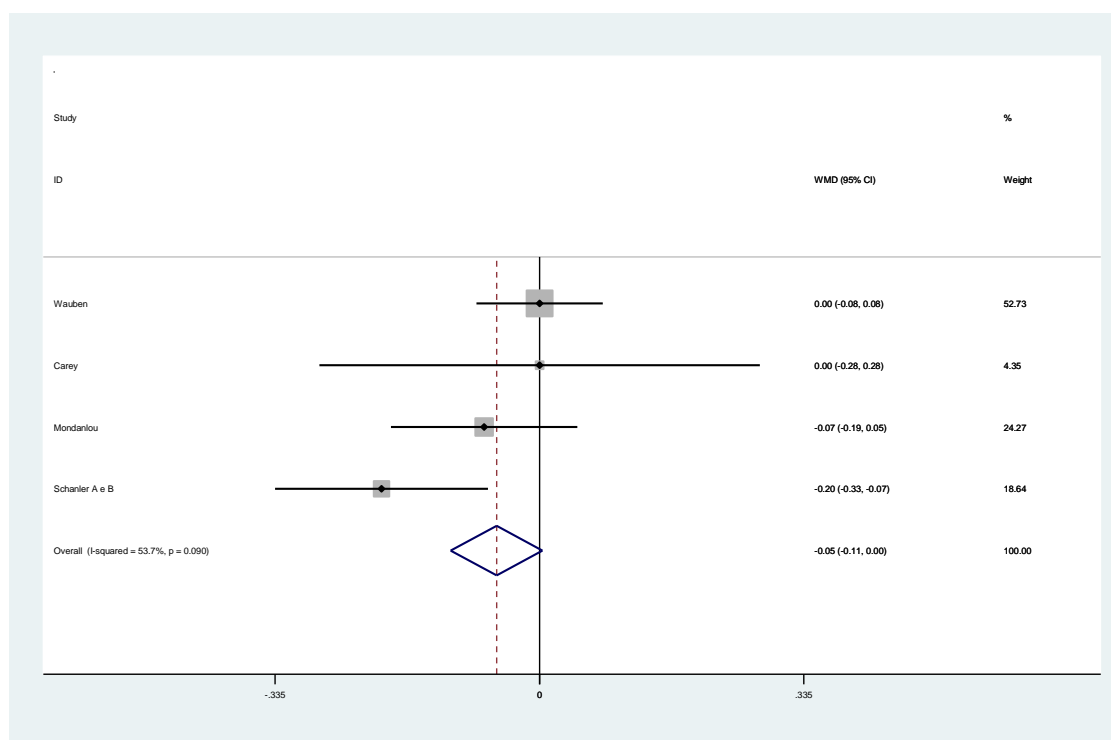


Gráfico 19– Comparação 2: Níveis Séricos de Cálcio (mg/dl)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Carey	-0.100	-0.629	0.429	4.64
Mondanlou	-0.100	-0.507	0.307	7.81
Schanler	0.600	0.478	0.722	87.55
I-V pooled WMD	0.513	0.399	0.627	100.00

Heterogeneity chi-squared = **15.82** (d.f. = 2) p = **0.000**

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **87.4%**

Test of WMD=0 : z= **8.83** p = **0.000**

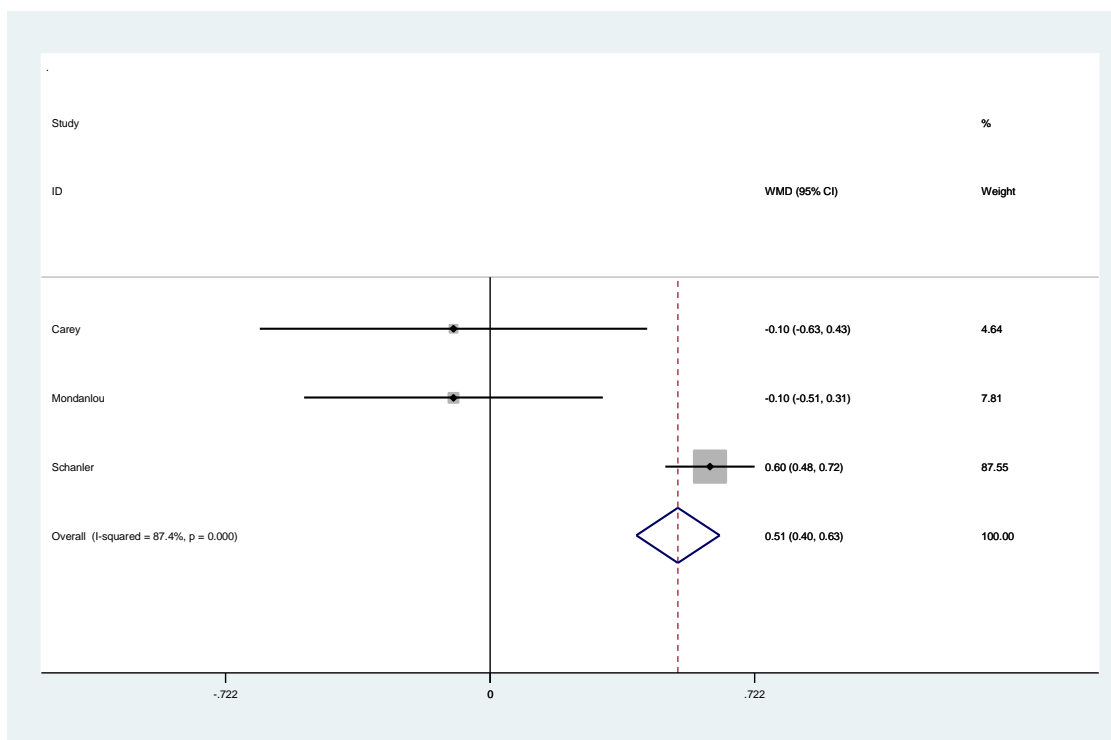


Gráfico 20– Comparação 2: Níveis Séricos de Fósforo (mg/dl)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% weight
Carey	-0.800	-1.786	0.186	3.71
Mondanlou	-0.700	-1.453	0.053	6.36
Schanler	-1.800	-2.000	-1.600	89.94
I-V pooled WMD	-1.693	-1.883	-1.503	100.00

Heterogeneity chi-squared = **10.93** (d.f. = 2) p = **0.004**

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = **81.7%**

Test of WMD=0 : z= **17.48** p = **0.000**

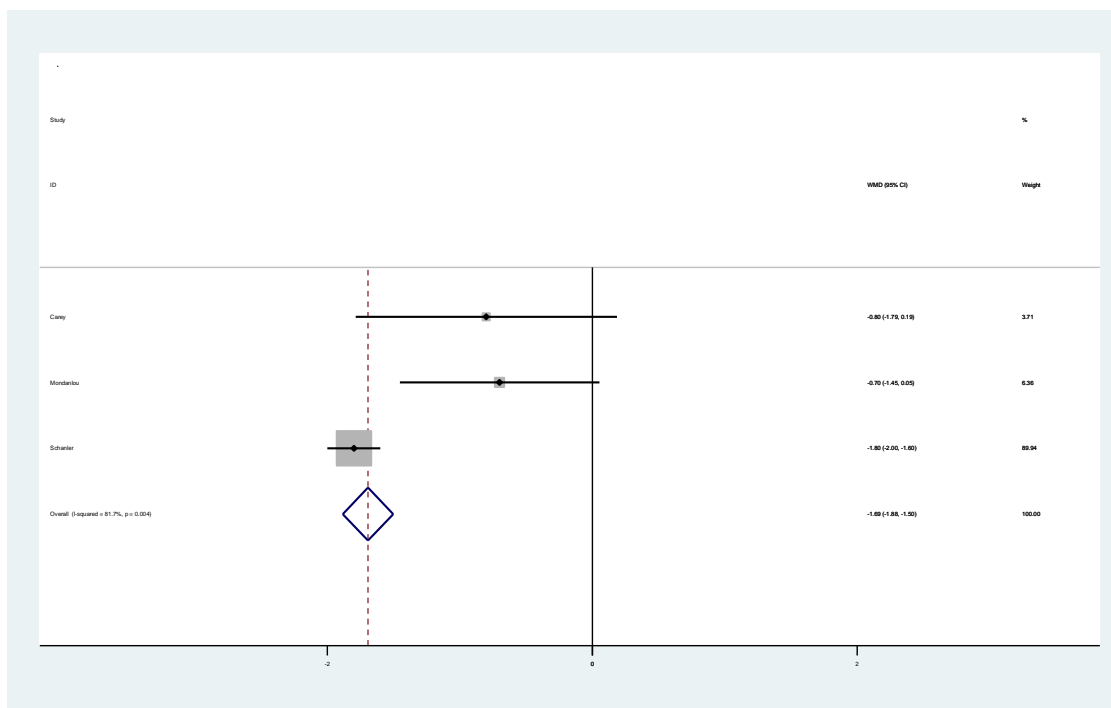


Gráfico 21– Comparação 2: Níveis Séricos de Fosfatase Alcalina (UI/L)

Study	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
Wauben	24.000	-51.231	99.231	12.66
Carey	118.000	56.224	179.776	18.77
Mondanlou	-8.000	-204.832	188.832	1.85
Doege	6.000	-26.766	38.766	66.72
I-V pooled WMD	29.043	2.278	55.808	100.00

Heterogeneity chi-squared = 10.02 (d.f. = 3) p = 0.018

I-squared (variation in WMD attributable to heterogeneity) = 70.1%

Test of WMD=0 : z= 2.13 p = 0.033

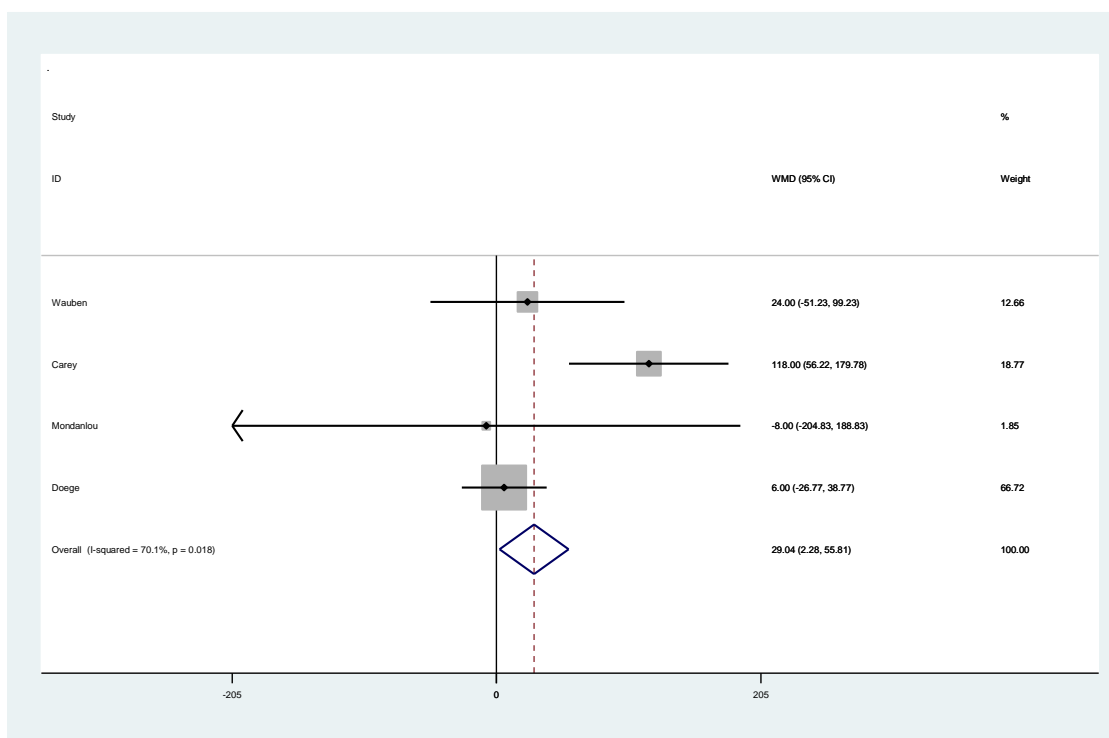
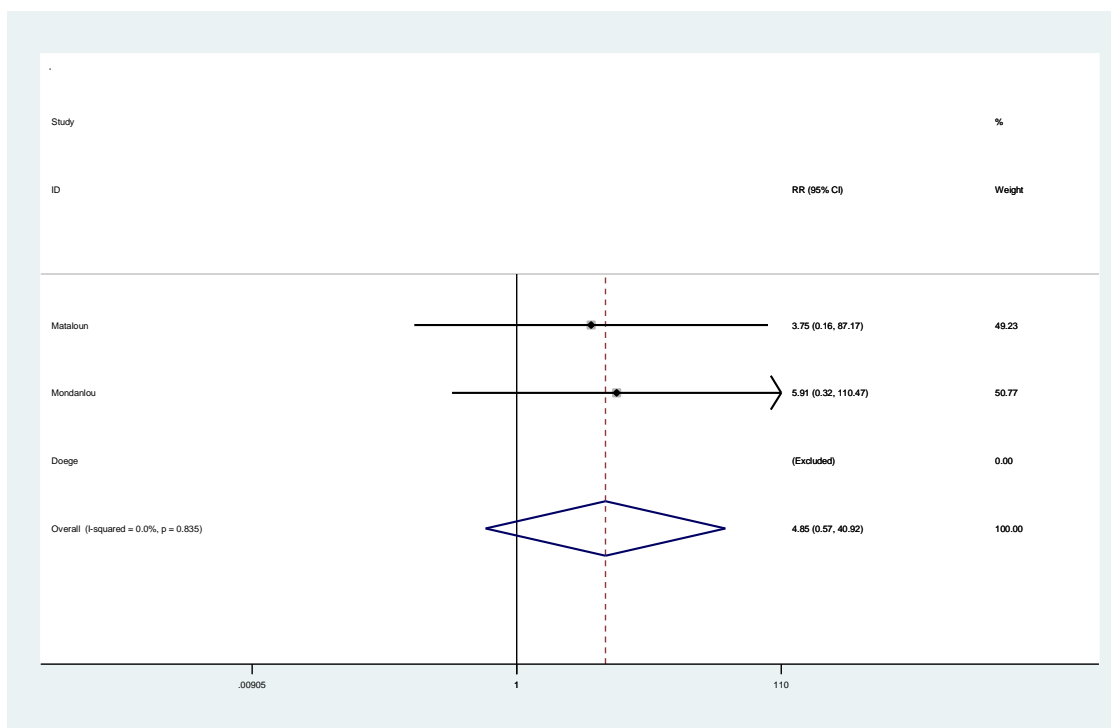


Gráfico 22– Comparação 2: Risco de Enterocolite Necrosante

Study	RR	[95% Conf. Interval]	% Weight
Mataloun	3.750	0.161 87.173	49.23
Mondanlou	5.909	0.316 110.472	50.77
Doege	(Excluded)		
M-H pooled RR	4.846	0.574 40.918	100.00

Heterogeneity chi-squared = **0.04** (d.f. = 1) p = **0.835**
 I-squared (variation in RR attributable to heterogeneity) = **0.0%**

Test of RR=1 : z= **1.45** p = **0.147**



6.4 Comparação 3: Diferentes aditivos entre si

Esta dissertação demonstrou, através de uma metanálise de 14 ensaios clínicos randomizados, evidências de maior crescimento em curto prazo, sem aumento risco de ECN, em prematuros com PN \leq 1500 g e IG \leq 34 semanas, quando alimentados com LH suplementado com aditivos multicomponentes, comparado ao LH puro. Além disso, também demonstrou, através de outra metanálise que incluiu oito ensaios clínicos, não haver evidência de diferença em termos de crescimento em curto prazo e ECN em prematuros alimentados com FP ou LH suplementado com aditivos multicomponentes. Entretanto, o melhor aditivo ainda não foi determinado.

Na busca estruturada da literatura foram identificados 11 ensaios clínicos randomizados (23,24,53–61) comparando diferentes aditivos multicomponentes e preenchendo nossos critérios de inclusão. Esses estudos incluíram um total de 958 RN. O tipo de aditivo utilizado variou bastante entre os estudos e este foi o maior limitante à realização de uma metanálise. Quatro ensaios clínicos, de Moya et al., Miller et al., Porcelli et al. e Moro et al. (23,53,54,61), não identificaram o aditivo em pelo menos um dos braços. Mesmo nos estudos que identificaram o aditivo seria difícil realizar uma análise agrupada, uma vez que um mesmo suplemento foi se modificando ao longo do tempo para melhor atender às demandas do bebê prematuro. Por este motivo foi realizada apenas uma Revisão Sistemática da literatura, cujos resultados encontram-se descritos abaixo e os resultados mais relevantes estão descritos na Tabela 14.

6.4.1 Descrição dos estudos:

Entre os 11 estudos incluídos, os ensaios clínicos de Moya et al., Miller et al., Porcelli et al. e Moro et al. (23,53,54,61) não identificaram o aditivo em pelo menos um dos braços, mas forneceram sua composição, os outros estudos identificaram os aditivos. Suas composições estão descritas na Tabela 11 e

Tabela 12.

Os estudos de Moya e colaboradores e Sankaran e colaboradores(23,24)compararam aditivos em apresentação líquida a aditivos na apresentação tradicional, em pó. O estudo de Sankaran e colaboradores(24) utilizou um aditivo em forma líquida, diluído volume a volume com o LH, já o estudo de Moya e colaboradores (23) utilizou um aditivo multicomponente em apresentação líquida ultra concentrada, no qual cinco pequenos frascos foram diluídos em 100ml de LH. Nos dois estudos, o grupo controle utilizou quatro sachês de aditivo em pó diluídos em 100ml de LH, conforme recomendação dos fabricantes. Os outros nove estudos utilizaram aditivos em pó, sendo que dois, de Moro e colaboradores (53) e Arslanoglu e colaboradores (58), compararam fortificação padrão do LH (quantidade fixa de aditivos) a uma fortificação variável, com quantidade de aditivo ajustada pela proteína sérica. O estudo de Moro e colaboradores (53) realizou ainda a comparação de um aditivo originado de LH ao aditivo de origem bovina em esquema fixo ou ajustável.

Um estudo, publicado por Gonçalves (59) e colaboradores utilizou como aditivo, em um dos braços, FP diluída volume a volume com leite materno. O ensaio clínico de Kanmaz e colaboradores (60) estudou um mesmo aditivo diluído em diferentes quantidades de LH com o objetivo de fornecer maiores aportes proteicos aos participantes. O restante dos estudos, de Loui et al., Reis et al., Porcelli et al.

Miller et al. e Berseth et al. (54–57,61), comparou dois diferentes aditivos em apresentação em pó, utilizados a maneira tradicional, como recomendado pelos fabricantes.

Os critérios de inclusão foram variáveis. Sete estudos, de Moro, Porcelli, Loui, Berseth, Gonçalves, Moya, Kanmaz e colaboradores, (23,53,54,56,57,59,60) utilizaram PN \leq 1500 g, três, de Sankaran, Reis, Arslanoglu e colaboradores (24,55,58), utilizaram limites maiores (até 1750g), mas IG de nascimento \leq 34 semanas e o estudo de Miller e colaboradores utilizou apenas IG $<$ 31 semanas, e não PN, como critério de inclusão. De modo geral, os estudos excluíram RN graves ou portadores de anomalias congênitas. A maior parte dos estudos iniciou o aditivo a quando os pacientes toleravam um volume pré-definido de dieta, geralmente em torno de 100ml/kg/dia.

A duração da maior parte dos estudos foi até que os pacientes atingissem um peso específico (em torno de 2000 g), recebessem alta ou estivessem em aleitamento materno exclusivo por sucção ao seio materno.

Os desfechos foram variáveis, como se observa abaixo.

As características metodológicas dos estudos estão descritas na Tabela 13.

- Aditivo em apresentação líquida comparado a aditivo em pó, em esquema fixo

A formulação de aditivos em apresentação líquida vem sendo uma preocupação, uma vez que os aditivos em pó não são estéreis e apresentam risco de contaminação, além de que a alteram a osmolaridade e sua diluição não é homogênea no LH. Apesar disso, o aditivo em apresentação líquida tem a

desvantagem de diluir o leite materno e diminuir a quantidade de LH oferecida ao RN. (23,24)

Dois estudos, de Moya et al. e Sankaran et al. (23,24), compararam um aditivo multicomponente em apresentação líquida a um aditivo multicomponente em pó. O primeiro, publicado por Sankaran e colaboradores (24), foi um ensaio clínico, randomizado, com 60 RN prematuros, com PN entre 600 e 1600g, IG entre 24 e 34 semanas, no qual compararam um aditivo em apresentação líquida (Similac Natural Care Human Milk Fortifier®) a um aditivo em pó (Enfamil Human Milk Fortifier®). Os desfechos avaliados foram ganho de peso, comprimento e PC em curto prazo, parâmetros bioquímicos, tolerância e morbidade. As características basais dos dois grupos foram semelhantes. Dos 60 participantes, só há dados completos para 41, sendo 22 do grupo intervenção (aditivo em líquido) e 19 no grupo controle (aditivo em pó). Dos 19 pacientes excluídos, 11 foram removidos por problemas clínicos e o restante por alta precoce, sem diferença entre os grupos, cálculos estatísticos concluíram que não há evidência de que os pacientes excluídos alteraram o resultado do estudo.

O segundo estudo, publicado por Moya e colaboradores (23), foi um ensaio clínico, controlado, randomizado, duplo cego e multicêntrico, no qual 146 prematuros com $PN \leq 1250g$ e $IG \leq 37$ semanas foram randomizados para receberem: um aditivo multicomponente em apresentação líquida ultra concentrada (grupo intervenção, $n=74$) ou um aditivo multicomponente em apresentação pó (grupo controle, $n=72$). Os participantes receberam leite da própria mãe ou de banco de LH. O novo aditivo, em apresentação líquida, forneceu aproximadamente 20% mais proteína que o aditivo em pó, com menor risco de contaminação inerente à

apresentação líquida, sem a desvantagem da diluição do LH, uma vez que é mais concentrado que os aditivos líquidos convencionais, que costumam ser diluídos volume a volume com o leite materno. O desfecho primário foi taxa de ganho de peso (g/Kg/dia) no período de intervenção. Entre os desfechos secundários destacam-se taxa de crescimento linear, consumo enteral e parenteral, tolerância, parâmetros bioquímicos, incidência de enterocolite necrosante e sepse e eventos adversos graves. A análise primária foi realizada com todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de aditivos (análise por intenção de tratamento) e uma análise secundária (por protocolo) foi realizada apenas naqueles que receberam $\geq 80\%$ do consumo energético de leite materno fortificado com o aditivo do estudo por pelo menos duas semanas, que não ficaram em dieta zero por mais de dois dias, não receberam corticoides nem apresentaram qualquer doença que afetasse o crescimento. A randomização foi estratificada por gênero e PN ($\leq 1000\text{g}$ ou $> 1000\text{g}$). Os dois grupos foram similares em relação às características basais e à quantidade de leite de BLH utilizada. Foram randomizados 150 bebês, dos quais 146 receberam pelo menos uma dose do aditivo e 106 completaram os 28 dias de estudo. A maior parte das perdas de seguimento não foi relacionada ao uso do aditivo.

- Dois aditivos em pó, esquema fixo

Sete estudos compararam dois aditivos em pó diferentes. (54–57,59–61) O primeiro, de Porcelli e colaboradores (54), foi um ensaio clínico randomizado,

multicêntrico, no qual foram avaliadas eficácia e segurança de um novo aditivo de LH com conteúdo proteico 30% maior (*Wyeth Nutritionals International's*®), comparado ao aditivo de referência à época do estudo (Enfamil HMF®). O estudo não foi duplo cego, pois o aditivo de referência requer quatro sachês para cada 100ml e o novo aditivo, dois, porém, foi cego ao investigador. Foram incluídos 90 RN com PN entre 600 e 1500 g, e IG entre 25 e 32 semanas, sendo 47 no grupo intervenção (novo aditivo) e 43 no grupo controle (aditivo de referência). Destes, 64 completaram o estudo (35 e 29 respectivamente). A análise de eficácia foi realizada inicialmente por protocolo e em seguida foi realizada uma análise por intenção de tratamento, com o objetivo de validar os resultados. Os desfechos analisados foram crescimento em curto prazo, parâmetros bioquímicos e incidência de eventos adversos. As características basais foram semelhantes nos dois grupos, tanto na análise por protocolo como na análise por intenção de tratamento, exceto para peso ao início do estudo, maior no grupo utilizando o novo aditivo (peso $1.419,5 \pm 38,6$ g contra $1.255,2 \pm 36,2$ g; $p= 0,0033$ na análise por protocolo).

Reis e colaboradores (55) realizaram um ensaio clínico duplo cego, no qual 144 prematuros com $PN \leq 1600g$ e $IG \leq 33$ semanas foram randomizados para receberem LH (da própria mãe ou de banco de leite) suplementado com um novo aditivo (Similac®, $n=74$) ou com o aditivo de referência (Enfamil®, $n=70$). O desfecho primário foi o ganho de peso do primeiro dia de estudo ao 29º ou até a alta, o que acontecesse primeiro. Entre os desfechos secundários se destacam crescimento, aumento de PC e morbidade. Os RN foram randomizados antes do 21º dia e o primeiro dia de estudo (D1) foi definido como aquele em que o bebê estivesse recebendo pelo menos 100ml/kg/dia de LH fortificado. Os resultados foram

analisados tanto por intenção de tratamento (incluindo todos os bebês randomizados que ainda estivessem no estudo no D1, n=119) quanto por protocolo (incluindo aqueles que completaram o estudo, n= 89). As características basais nos dois grupos foram semelhantes.

Loui e colaboradores (56) realizaram um ensaio clínico controlado, randomizado e duplo cego, em dois centros, com o objetivo de avaliar níveis séricos de zinco e outros oligoelementos e de minerais, função tireoidiana e crescimento em RN de muito baixo peso ao nascer. Os participantes receberam LH (da própria mãe ou de banco de leite) fortificado com um aditivo multicomponente contendo zinco, cobre, manganês e iodo (BMF 3%®, n=40) ou com aditivo sem oligoelementos (FM 85 5%® n=44). Alguns participantes receberam cálcio e fósforo, na dependência de marcadores bioquímicos, todos receberam vitamina D e aqueles utilizando eritropoietina receberam ferro elementar. O desfecho primário foi a concentração sérica de zinco com três e seis semanas de vida. Os desfechos secundários de interesse para esta revisão foram concentração sérica de minerais, atividade de fosfatase alcalina e ganho de peso. A análise dos resultados foi realizada apenas para aqueles que completaram o estudo. As características basais dos dois grupos foram semelhantes.

Berseth e colaboradores (57) realizaram um ensaio clínico controlado, randomizado, duplo cego e multicêntrico no qual compararam eficácia e segurança de dois aditivos de LH, em 181 prematuros com PN \leq 1500 g e IG \leq 33 semanas. O grupo intervenção recebeu o aditivo Enfamil® (n=96), que havia sido recentemente reformulado e que para o estudo foi suplementado com 1,44 mg/58Kj de ferro. Esta quantidade de ferro é semelhante a das fórmulas para recém-nascido a termo, o que

evitaria a necessidade de administração de suplementos de ferro aos prematuros, uma substância com elevada osmolaridade. O grupo controle recebeu o aditivo Similac® (n=85) disponível no mercado à época do estudo. O desfecho primário foi a taxa de ganho de peso e os desfechos secundários incluíram outros parâmetros de crescimento, necessidade de transfusão e tolerância aos aditivos. As características basais dos dois grupos foram semelhantes. O percentual de participantes que completaram 28 dias de estudo foi semelhante nos dois grupos (57% no grupo intervenção e 46% no grupo controle), e as principais razões para descontinuação foram alta hospitalar ou falta de LH.

O estudo publicado por Gonçalves e colaboradores (59) foi um ensaio clínico randomizado, controlado, duplo cego, no qual prematuros com PN \leq 1500 g foram randomizados para receberem LH (da própria mãe ou de banco de leite) fortificado com: FM 85® a 5% (n=14) ou Pré NAN® 19% diluído volume a volume com o LH (n=11). Todos os participantes receberam suplementos vitamínicos a partir do 8º dia de vida e ferro a partir do 16º. Entre os desfechos avaliados destacam-se peso, comprimento, PC, níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina e tolerância (episódios de distensão abdominal, resíduos gástricos ou vômitos e presença ou suspeita de casos de enterocolite necrosante). As características basais dos participantes foram semelhantes. Os resultados foram apresentados apenas para aqueles que completaram o estudo. As três perdas de seguimento ocorreram por enterocolite necrosante suspeita, todas no grupo utilizando FM 85® entretanto, o diagnóstico não foi confirmado em nenhum dos casos.

Miller e colaboradores (61) publicaram um ensaio clínico randomizado, controlado e duplo cego, com o objetivo de comparar o efeito de fortificar o LH com

aditivo contendo maior quantidade de proteína no crescimento de prematuros menores de 31 semanas, cujas mães desejavam amamentar. Os pacientes foram randomizados em dois grupos, estratificados por gênero e IG (menor ou maior que 28 semanas). O grupo intervenção (n=43) recebeu um aditivo com alto conteúdo proteico (1,4 g de proteína para cada 100 ml de LHO) e o grupo controle (n=49) recebeu o aditivo padrão (1 g de proteína e maior conteúdo de carboidrato para cada 100ml). Na ausência de LHO da própria mãe, os participantes recebiam FP contendo 2,4 g de proteína para cada 100ml e foi definido *a priori* uma análise de subgrupo para aqueles que recebessem mais de 70% da dieta como leite materno fortificado. O desfecho primário foi o aumento de comprimento porque, segundo os autores, esta medida refletiria melhor o ganho de massa corporal magra e não seria afetado pelo estado de hidratação ou ganho de gordura quando comparado ao aumento de peso. Alguns dos desfechos secundários foram ganho de peso e de PC, parâmetros bioquímicos e segurança. As características basais dos pacientes foram semelhantes no início do estudo. A análise dos resultados foi realizada por intenção de tratamento. O número de bebês que participou da análise de subgrupo foi 59 (64%), sendo 29 do grupo intervenção e 30 do grupo controle.

Kanmaz e colaboradores (60) realizaram um ensaio clínico controlado, duplo cego, no qual prematuros com PN \leq 1500 g, IG \leq 32 semanas e em aleitamento materno exclusivo foram randomizados em três grupos para receberem: fortificação padrão (1,2 g do aditivo Eoprotin® diluído em 30 ml de leite materno, n=26), fortificação moderada (1,2 g de Eoprotin® diluído em 25 ml de leite materno, n=29) ou fortificação agressiva (1,2 g de Eoprotin® diluído em 20 ml de leite materno, n=29). O conteúdo proteico estimado em cada grupo foi 3 g/Kg/dia; 3,3 g/Kg/dia e

3,6 g/Kg/dia respectivamente e a osmolaridade estimada 340, 360 e 380 mOsm/L. Todos os participantes receberam suplementação de ferro a partir do 30º dia de vida. O desfecho primário foi o crescimento em curto prazo (ganho de peso diário em g/dia e g/Kg/dia, comprimento na alta e aumento semanal do PC) e os desfechos secundários foram tolerância alimentar e resposta metabólica (níveis séricos de ureia, cálcio, fósforo e fosfatase alcalina). As características basais dos três grupos foram semelhantes, assim como o volume de leite materno fortificado consumido por dia.

- Dois aditivos em pó, de origem bovina, em esquema ajustável ou em esquema fixo

Foi identificado apenas um estudo, publicado por Arslanoglu e colaboradores (58), que comparou um esquema de fortificação de LH com quantidades fixas de um aditivo multicomponente (FM 85%® a 5%) a um esquema ajustável pelas concentrações séricas de ureia medidas duas vezes por semana (FM 85® a 2,5%, 5%, 6,25%, 6,25% + 0,4 g de proteína e 6,25% + 0,8 g de proteína). A hipótese investigada foi que RN prematuros alimentados com o esquema ajustável apresentariam um maior consumo proteico e melhor ganho de peso que aqueles alimentados com esquema padrão de fortificação do leite materno. Este estudo foi um ensaio clínico controlado, cego para o cuidador (mas não para o investigador), do qual participaram prematuros com PN entre 600 e 1750g e IG de nascimento entre 27 e 33 semanas. A randomização foi estratificada por PN (\leq 1250 g, 1251 a 1500 g, 1501 a 1750 g) e os RN receberam leite materno da própria mãe, fresco ou congelado, ou de banco de LH. Alguns dos desfechos analisados foram ganho de

peso, concentrações séricas cálcio, fósforo e fosfatase alcalina e tolerância alimentar. As características basais dos dois grupos foram semelhantes.

- Aditivo de origem humana comparado a aditivo de origem bovina em esquema fixo ou ajustável

Foi identificado um estudo, publicado por Moro e colaboradores (53), do qual participaram 42 prematuros com PN entre 900 e 1500 g, alimentados com LH da própria mãe ou doado de banco de LH. Este ensaio clínico randomizou os pacientes em três grupos; o primeiro recebeu LH fortificado com um aditivo multicomponente derivado de LH (0,9 g: 100 ml), o segundo e o terceiro grupos receberam LH fortificado com um aditivo multicomponente derivado de proteína bovina, sendo que o segundo grupo utilizou o aditivo em quantidades fixas (3,5 g: 100 ml de leite materno) e o terceiro em quantidades ajustadas (1,7 g: 100 ml a 5,3 g: 100 ml, de acordo com os níveis séricos de ureia dosados duas vezes por semana). Foram realizadas duas comparações, a primeira entre o grupo fixo e o ajustável, com objetivo de avaliar se o maior aporte de proteínas e minerais levaria a maior crescimento, e a segunda entre o grupo fixo e o grupo com aditivo de LH. Todos os participantes receberam suplementos de vitaminas e ferro e o grupo utilizando aditivo derivado do LH recebeu ainda suplemento de cálcio e fósforo. Os desfechos avaliados foram ganho de peso (g/K/dia), aumento de comprimento e de PC (cm/sem), níveis séricos de ureia e concentração de minerais. Os resultados foram apresentados apenas para os 36 participantes que completaram pelo menos 19 dias de estudo, sendo 12 em cada grupo. As características basais dos três grupos foram

semelhantes, inclusive em relação à proporção de pacientes recebendo predominantemente LH da própria mãe ou LHOP de BLH.

6.4.2 Risco de viés nos estudos incluídos

Três estudos, de Moro, Gonçalves, Arslanoglu e colaboradores (53,58,59), incluíram menos de 20 paciente por grupo de tratamento e apenas três, de Reis, Berseth, Moya e colaboradores(23,55,57), mais de 50. Ao contrário das outras duas comparações, em que a minoria dos estudos incluiu cálculo do tamanho amostral no seu desenho, na comparação de diferentes aditivos entre si apenas os ensaios clínicos publicados por Sankaran, Gonçalves, Kanmaz e colaboradores (24,59,60), não incluíram o cálculo do tamanho amostral. Isso se deve, provavelmente, ao fato de que nesta comparação os estudos são mais recentes e os autores mais comprometidos em preencher critérios mínimos de qualidade.

Quatro estudos, de Porcelli, Reis, Berseth, Moya e colaboradores(23,54,55,57), não informaram o método de randomização e o estudo de Gonçalves e colaboradores(59) informou apenas ter realizado um sorteio. Três ensaios clínicos, de Moro, Kanmaz, Arslanoglu e colaboradores(58,60), utilizaram envelopes selados, sendo que apenas um deles, de Arslanoglu e colaboradores(58), especificou que os envelopes eram opacos. Por fim, os ensaios clínicos de Sankaran et al., Miller et al. e Loui et al. (24,56,61) randomizaram os participantes via tabela de números aleatórios.

Sete estudos foram cegos ou duplo cegos (23,54,56–58,60,61), mas quatro foram abertos ou não forneceram informações sobre cegamento. (24,53,59)

Todos os estudos focaram em prematuros que estivessem em condições de saúde relativamente boas. RN portadores de malformações congênitas, alterações cromossômicas e/ou doenças de moderada ou alta gravidade não foram recrutados ou foram excluídos do resultado final, o que se constitui num importante viés de seleção, uma vez que os pacientes mais graves em geral apresentam maior gasto metabólico basal e estão mais sujeitos a desnutrição.

Seis estudos realizaram análise dos resultados por intenção de tratamento (23,54,55,57,60,61), mas os outros cinco apresentaram os resultados apenas para os pacientes que completaram os estudos. (24,53,56,58,59)

Não houve possibilidade de realização de metanálise uma vez os estudos utilizaram diferentes esquemas de fortificação do LH. Além disso, um mesmo aditivo foi se modificando com o passar do tempo, para melhor atender às necessidades do prematuro, o que impossibilitou a análise agrupada mesmo entre os ensaios clínicos que utilizaram o mesmo aditivo em qualquer dos braços.

Tabela 11- Comparação 3: Composição dos aditivos de leite humano (aditivo em apresentação líquida x aditivos em pó)

Estudo	Sankaran 1996		Moya 2012	
	LH + HMF Similac Natural Care® (líquido) 1:1/ por 100Kcal	LH + HMF Enfamil® (pó) / por 100 Kcal	LH + HMF (líquido ultra concentrado) / por 100ml	LH+ HMF (pó) / por 100ml
Calorias (kcal)	100	100	78	81
Volume (ml)	136	124	NI	NI
Proteína (g)	2,6	2,9	2,6	3,2
Gordura (g)	5,4	4,4	4,4	4,8
Carboidrato (g)	10,8	12,5	7,4	6,6
Cálcio (mg)	133	144	113	118

Fosfato (mg)	68	74	64	65
Sódio (mg)	43	44	43	46
Potássio (mg)	104	82	77	79
Cloretos (mg)	85	95	70	72
Ferro (mg)	0,3	0,1	1,5	1,54
Vitaminas	Sim	Sim	Sim	Sim

LH: leite humano; HMF: *human milk fortifier* (aditivo de LH); FP: fórmula para prematuro

Tabela 12 - Comparação 3: Composição dos aditivos de leite humano (aditivos em pó)

Estudo \ Nutriente	Porcelli 2000		Reis 2000		Loui 2004	
	Novo HMF (4 g) – para 100ml de LH	HMF (Enfamil®) 3,8g) – para 100ml de LH	LH + HMF Similac®/ por 100ml	LH + HMF Enfamil® / por 100ml	HMF c/ oligoele - mentos (BMF® 3g) - para 100ml de LH	HMF (FM 85®) 5g) - para 100ml de LH
Calorias (kcal)	13	14	79	79	10	18
Proteína (g)	1	0,7	2,3	2,0	0,7	0,8
Gordura (g)	0,05	<0,1	4,1	3,9	-	-
Carboidrato (g)	2	2,7	8,2	9,1	2	3,6
Cálcio (mg)	80	90	138	112	60	51
Fosfato (mg)	40	45	78	56	40	34
Sódio (mg)	15	7	39	31	-	-
Potássio (mg)	20	15,6	117	71	-	-
Cloretos (mg)	NI	NI	90	71	-	-
Ferro (mg)	NI	NI	0,46	0,12	-	-
Vitaminas	Sim	Sim	Sim	Sim	NI	NI
Oligoelementos	NI	NI	NI	NI	Zinco, cobre, manganês, iodo	Não

Tabela 12 - Comparação 3: Composição dos aditivos de leite humano (aditivos em pó), continuação.

Estudo	Berseth 2004		Gonçalves 2009		Miller 2012	
	HMF (Enfamil® - 4 sachés)- para 100ml de LH	HMF (Similac® - 4 sachés) - para 100ml de LH	LH + HMF FM85®/ por 100ml	LH 50ml + FP Pré Nan® 50ml/ por 100ml	HMF (alta proteína) / por 100g de pó*	HMF (proteína padrão) / por 100g de pó*
Nutriente						
Calorias (kcal)	58	58	81,7	80,2	343	343
Proteína (g)	1,1	1	1,9	2	27,5	19,8
Gordura (g)	1	0,36	3,7	4,2	0,6	0,6
Carboidrato (g)	0,2	1,8	10,2	8,8	57,2	64,9
Cálcio (mg)	90	117	78,8	62,2	1344	1447
Fosfato (mg)	50	67	47,1	37,8	840	891
Sódio (mg)	16	15	1,8	1,1	-	-
Potássio (mg)	29	63	1,6	2	-	-
Cloretos (mg)	13	38	1,7	1,4	-	-
Ferro (mg)	1,44	0,35	-	-	20	29
Vitaminas	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Tabela 12 - Comparação 3: Composição dos aditivos de leite humano (aditivos em pó), continuação.

Estudo Nutriente	Kanmaz 2012	Moro 1995		Arslanoglu 2006	
	HMF (Eoprotin® 3g)- para 75 ml de LH	HMF derivado de LH (0,9g)- para 100ml de LH	HMF experimental (3,5g)- para 100ml de LH	HMF (FM 85 5g) para 100ml de LH	Proteína suplementar (0,4g)
Calorias (kcal)	11	Aproximadamente 3,3	13	18	1,6
Proteína (g)	0,6	Aproximadamente 0,54	0,79	0,8	0,3
Gordura (g)	0,02	Aproximadamente 0,08	0,36	3,6	0,05
Carboidrato (g)	2,1	Aproximadamente 0,10	1,7	0,01	0,016
Cálcio (mg)	38	3,7	121	52	1,6
Fosfato (mg)	-	0,9	61	36	1,2
Sódio (mg)	20	1,4	15,4	27	0,8
Potássio (mg)	2,4	3,2	63	11,5	2,3
Cloretos (mg)	15	1,1	37,7	18,4	0,6
Ferro (mg)	-	-	0,35	-	-
Vitaminas	Sim	Não	sim	Sim	Não

LH: leite humano; HMF: *human milk fortifier* (aditivo de LH)

* Baseados no FM 85®

Tabela 13- Comparação 3: Qualidade metodológica dos estudos incluídos

Estudo	Desenho	Método de Randomização	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Moro 1995	ECR PN 900-1500g	Envelopes selados, Estratificado por IG e PN	NI	Não	PP	6 / 42 (14,2%)	Sim (12 / grupo)
Sankaran 1996	ECR PN < 1600, IG < 34 sem	Tabela de números aleatórios computadorizada	Sim	NI	PP	19 / 60 (31,6%)	NI
Porcelli 2000	ECR multicentrico, PN <1500, IG < 32 sem	NI	NI	Cego para investigador	ITT e PP	26 / 90 (28,8%)	Sim (60)
Reis 2000	ECR PN ≤ 1600g, IG ≤ 33 sem	NI, Estratificado por peso e gênero	NI	NI	ITT e PP	55 / 144 (38%)	Sim (98)
Loui 2004	ECR bicentrico, PN < 1500g, IG < 33 sem	Tabela no aleatórios, em bloco	Sim	Duplo cego	PP	21 / 86 (25%)	Sim (28 / grupo)
Berseth 2004	ECR, multicentrico PN ≤ 1500g, IG ≤ 33 sem	NI, Estratificado sexo e PN	NI	Duplo cego	ITT	87 / 181 (48%)	Sim (39 / grupo)
Arslanoglu 2006	ECR PN ≤ 1750, IG ≤ 33 sem	Envelopes selados opacos numerados, estratificado por PN	Sim	Cego para cuidador	PP	2/34 (5,8%)	Sim (15/grupo)

Tabela 13 - Comparação 3: Qualidade metodológica dos estudos incluídos, continuação

Estudo	Desenho	Método de Randomização	Sigilo da Alocação	Cegamento	Abordagem Analítica	Perdas	Cálculo Tamanho Amostral
Gonçalves 2009	ECR PN ≤ 1500g	Sorteio	NI	NI	PP	3 / 25 (12%)	NI
Miller 2012	ECR IG < 31 sem	Tabela de números aleatórios computadorizada, Estratificado por gênero e IG	Sim	Duplo cego	ITT	Não	Sim (40 / grupo)
Moya 2012	ECR, multicentrico PN ≤ 1250g, IG ≤ 37 sem	NI, Estratificado por PN e sexo	NI	Duplo cego	ITT e PP	44 / 150 (29,3%)	Sim (50 / grupo)
Kanmaz 2013	ECR PN ≤ 1500g, IG ≤ 32 sem	Envelopes selados	NI	Duplo cego	ITT	21 / 105 (20%)	NI

ECR: ensaio clínico randomizado; PN: peso de nascimento; IG: idade gestacional; NI: não informado; ITT: análise por intenção de tratamento (*intention to treat*); PP: análise por protocolo.

6.4.3 Efeitos da Intervenção

Os principais resultados estão descritos na Tabela 14.

Crescimento em curto prazo

Todos os estudos avaliaram variáveis de crescimento em curto prazo.

Os dois estudos que compararam um aditivo líquido com aditivo em pó não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos no ganho de peso diário, nem no PC ($p > 0,05$ para todas as comparações). O estudo de Sankaran e colaboradores (24) também não demonstrou diferença no crescimento linear ($p > 0,05$), enquanto o estudo de Moya e colaboradores (23) demonstrou maior crescimento linear nos RN utilizando o aditivo em líquido ultra concentrado, tanto na análise primária ($0,16 \pm 0,0006$ cm/dia no grupo intervenção *versus* $0,14 \pm 0,006$ cm/dia no grupo controle, $p = 0,03$) quanto na análise por protocolo ($0,17 \pm 0,006$ *versus* $0,14 \pm 0,006$ cm/dia, $p = 0,12$) respectivamente.

Oito estudos compararam dois aditivos em pó utilizados em dose fixa. O primeiro, de Porcelli e colaboradores (54), utilizou um aditivo com maior teor proteico comparado ao aditivo padrão na época do estudo e demonstrou que o novo aditivo levou a maior ganho de peso ($19,7 \pm 0,98$ g/Kg/dia comparado a $16,8 \pm 0,96$ g/Kg/dia com a aditivo de referência; $p < 0,05$) e de PC ($1,0 \pm 0,1$ cm/semana *versus* $0,8 \pm 0,1$ cm/semana respectivamente, $p < 0,05$).

O estudo publicado por Reis e colaboradores(55) demonstrou que o grupo alimentado com leite materno fortificado com o novo aditivo (aditivo Similac®) apresentou maior ganho de peso que o grupo controle (aditivo Enfamil®) tanto na

análise por intenção de tratamento ($17,6 \pm 4,1$ g/Kg/dia *versus* $14,9 \pm 3,2$ g/Kg/dia, $p=0,004$) quanto na análise por protocolo ($18,4 \pm 3,0$ g/Kg/dia *versus* $14,3 \pm 2,9$ g/Kg/dia, $p=0,001$). A diferença no crescimento linear foi de 0,14 cm/semana e 0,18 cm/semana respectivamente a favor do grupo intervenção ($p<0,05$ para as duas análises) e só foi demonstrado maior crescimento do PC no grupo utilizando o novo aditivo na análise por protocolo ($1,06 \pm 0,19$ cm/semana comparado $0,84 \pm 0,22$ cm/semana, $p=0,0007$).

No estudo de Loui e colaboradores(56) o ganho de peso foi um desfecho secundário. Neste estudo, o grupo controle demonstrou maior ganho de peso (Mediana: 17,3g/kg/dia, intervalo interquartil: 15,2 a 18,9 g/Kg/dia) que o grupo utilizando aditivo com oligoelementos (Mediana 16 g/kg/dia, intervalo interquartil: 13,3 a 17,3g/kg/dia), a diferença foi estatisticamente significativa ($p<0,05$), provavelmente como reflexo do maior conteúdo calórico e proteico do aditivo utilizado pelo grupo controle.

No estudo de Berseth e colaboradores (57), que comparou um aditivo suplementado com ferro a um aditivo padrão, a taxa de ganho de peso foi similar nos dois grupos ($17,5 \pm 0,53$ g/Kg/d nos participantes alimentados com LH fortificado com aditivo contendo ferro e de $17,3 \pm 0,59$ g/Kg/dia no grupo controle, $p=0,63$).

No estudo de Gonçalves e colaboradores (59), a velocidade de ganho ponderal foi menor no grupo utilizando FM 85® que nos pacientes utilizando Pré Nan® como aditivo de LH ($15,5 \pm 2,4$ g/kg/dia *versus* $17,5 \pm 3,6$ g/kg/dia, $p=0,03$).

O estudo de Miller e colaboradores (61) comparou um aditivo contendo proteína extra ao aditivo padrão. Este ensaio clínico não demonstrou diferença

estatisticamente significativa no aumento de comprimento entre o grupo intervenção e o grupo controle (diferença média: 0,06 cm/semana, IC 95%: -0,01 a 0,12 cm/semana, $p=0,08$). Também não houve diferença estatisticamente significativa na análise por protocolo, realizada com os pacientes cuja dieta foi composta por mais de 70% de leite materno.

Kanmaz e colaboradores (60) compararam um mesmo aditivo de LH, utilizado em diferentes concentrações, com o objetivo de fornecer quantidades padrão, intermediárias ou maiores de proteína aos prematuros. Não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos no ganho de peso diário nem no comprimento na alta ($p>0,05$). O aumento semanal de PC foi maior nos grupos de fortificação moderada ($0,92 \pm 0,22$ cm/semana) e agressiva ($0,82 \pm 0,21$ cm/semana) que no grupo recebendo fortificação padrão ($0,69 \pm 0,21$ cm/semana), a diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,001$). Apesar de haver um valor de *PCoutlier* no grupo fortificação moderada, que foi incluído na análise estatística, a exclusão deste caso não alterou o resultado de forma significativa.

Dois estudos compararam esquema de dose fixa de aditivo, com esquema de quantidades de aditivo ajustável pelos níveis séricos de proteína. O primeiro dele, de Arslanoglu e colaboradores (58), demonstrou maior ganho de peso e maior aumento do PC com o regime ajustável que com o regime padrão (ganho de peso: $17,5 \pm 3,0$ g/Kg/dia *versus* $14,4 \pm 3,0$ g/Kg/dia, $p<0,01$ e PC: $1,4 \pm 0,3$ cm/semana *versus* $1,0 \pm 0,3$ cm/semana, $p<0,05$). O ganho de peso analisado em gramas por dia também foi maior no grupo com esquema ajustável de fortificação do LH ($p<0,01$). Estes parâmetros foram diretamente relacionados ao aporte proteico, mas não ao

aporte calórico ou gorduroso. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no crescimento linear.

O outro estudo, de Moro e colaboradores (53), além de comparar um mesmo aditivo em esquema fixo e ajustável, foi também o único que utilizou um aditivo originado de LH, comparado ao aditivo bovino. Comparando os dois grupos utilizando o aditivo bovino, só houve diferença no aporte proteico (maior no grupo ajustável) na segunda semana de estudo ($p < 0,01$). Este ensaio clínico não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os três grupos para crescimento linear ou aumento do PC. O ganho de peso, seja em g/dia ou g/Kg/dia, foi menor no grupo utilizando aditivo de origem humana que nos grupos utilizando aditivo de origem bovina, e foi maior no grupo utilizando o esquema ajustável que o esquema fixo de fortificação. Entretanto, só houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre o esquema ajustável e o aditivo de origem de LH para o ganho de peso em gramas por dia ($32,3 \pm 2,9$ g/dia comparado a $27,8 \pm 4,5$ g/dia, $p < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos na análise do ganho de peso em gramas/Kg/dia.

Crescimento em longo prazo

Nenhum estudo avaliou esta variável

Desenvolvimento

Nenhum estudo avaliou esta variável

Enterocolite Necrosante

Sete estudos forneceram dados sobre esta variável.

No estudo de Moya e colaboradores (23), que comparou um aditivo líquido ultra concentrado a um aditivo em pó, a incidência total de casos confirmados de enterocolite necrosante foi de três por cento, sem diferença entre os grupos ($p=0,367$). No estudo de Berseth e colaboradores (57), que utilizou no grupo intervenção um aditivo em pó suplementado com ferro, a incidência de casos suspeitos e confirmados de enterocolite necrosante foi baixa e semelhante nos dois grupos. O estudo de Miller e colaboradores (61) não demonstrou diferença estatisticamente significativa no RR de enterocolite necrosante na comparação entre um aditivo contendo proteína extra e o aditivo padrão (RR 0,58; IC 95%: 0,16 a 2,12).

No estudo de Gonçalves e colaboradores (59), que utilizou como aditivos o FM 85® ou FP (Pré Nan®), três pacientes do grupo FM 85® foram excluídos por suspeita de enterocolite necrosante. O diagnóstico não foi confirmado em nenhum deles. No estudo de Kanmaz e colaboradores (60), que avaliou diferentes concentrações de proteína no LH fortificado, houve apenas um caso de ECN, diagnosticado no grupo recebendo fortificação moderada. Por fim, não houve casos de ECN no estudo publicado por Arslanoglu e colaboradores(58), que comparou esquema fixo com esquema ajustável, com diferentes concentrações de FM 85®, inclusive maiores que a concentração padrão, e a possibilidade de proteína extra.

No estudo de Martins e colaboradores (43) um paciente foi excluído por ECN, porém o autor não fornece informações sobre o momento da exclusão, se antes ou após o início do estudo.

Níveis Séricos de Cálcio, Fósforo e Fosfatase Alcalina

Sete dos onze estudos avaliaram esta variável.

No estudo de Sankaran e colaboradores (24), que comparou aditivo líquido com aditivo em pó, assim como nos estudos de Porcelli e colaboradores (54) e Kanmaz e colaboradores (60), que compararam aditivos com maiores teores de proteína ao aditivo padrão, não houve diferença entre os grupos nos valores de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina. Nos três estudos os níveis de cálcio e fósforo foram normais em todos os grupos, apenas no estudo de Kanmaz et al. (60) os níveis de fosfatase alcalina foram aumentados nos três braços, nos outros dois estudos a fosfatase alcalina foi normal.

O estudo publicado por Reis e colaboradores (55), que comparou um novo aditivo na época do estudo (aditivo Similac®) ao aditivo padrão (aditivo Enfamil®), demonstrou maior nível sérico de fosfatase alcalina ($p=0,007$) no grupo utilizando o novo aditivo na análise por intenção de tratamento. Na análise por protocolo foram demonstrados níveis séricos menores de cálcio ($p=0,016$) e fósforo ($p=0,021$) no grupo intervenção. As três variáveis foram normais para os dois grupos.

No estudo de Gonçalves e colaboradores (59), que utilizou como aditivo de LH o FM 85® ou a FP Pré Nan®, o nível sérico de fosfatase alcalina foi maior no grupo intervenção (FM 85®) que no grupo controle ($p=0,04$), e não houve diferença

estatisticamente significativa nos níveis séricos de cálcio e fósforo, todos os valores se encontravam dentro da normalidade, sendo que nenhum prematuro demonstrou sinais radiológicos de desmineralização.

No estudo publicado por Moro e colaboradores (53), que comparou aditivo derivado de LH a um aditivo derivado de leite de vaca em quantidades fixas e ajustáveis, as concentrações de minerais tenderam a ser menores no grupo com aditivo humano, entretanto, os níveis de cálcio e fósforo foram normais nos três grupos, em todas as análises. A diferença foi estatisticamente significativa apenas entre regime ajustado e aditivo de LH na terceira semana para nível sérico de cálcio e na primeira semana para nível sérico de fósforo ($p < 0,05$). Os níveis séricos de fosfatase alcalina foram aumentados nos três tipos de suplementação, porém não houve diferença estatística entre os grupos.

O estudo de Arslanoglu e colaboradores (58), que comparou um aditivo de origem bovina utilizado em quantidades fixa ou ajustável, não forneceu valores numéricos, mas informou que não houve diferença entre os grupos nos níveis séricos de cálcio, fósforo ou fosfatase alcalina. O autor informou ainda que apesar dos níveis de cálcio terem se mantido estáveis ao longo do estudo, os níveis de fósforo e fosfatase alcalina aumentaram nos dois grupos.

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes

Estudo / Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais			
			Aditivo de LH	Aditivo de proteína bovina, fixo	Aditivo de proteína bovina, ajustável
Moro 1995 ECR 900-1500g	- LHOFF (derivado de LH)	n	12	12	12
		Ganho de peso (g/dia)	27,8 ± 4,5*	30,0 ± 3,4	32,3 ± 2,9*
		Ganho de peso (g/kg/dia)	17,2 ± 2,6	18,3 ± 2,0	18,8 ± 2,0
	- LHOFF (derivado de proteína bovina, esquema fixo)	Ganho de comprimento (mm/dia)	1,34 ± 0,57	1,42 ± 0,61	1,27 v 0,45
		Ganho de PC (mm/dia)	1,58 ± 0,28	1,28 ± 0,44	1,33 ± 0,40
		Cálcio (mg/dl)			
	semana 1	9,4 ± 1,0	9,5 ± 0,8	9,9 ± 0,7	
	semana 3	9,4 ± 0,7*	9,7 ± 0,7	10,1 ± 0,4*	
	- LHOFF (derivado de proteína bovina, esquema ajustavel)	Fósforo (mg/dl)			
		semana 1	5,2 ± 1,9*	5,9 ± 0,8	7,0 ± 1,2*
		semana 3	6,0 ± 1,1	6,5 ± 0,7	6,9 ± 1,2
	Fosfatase alcalina (UI/l)				
		semana 1	870 ± 55	821 ± 111	803 ± 93
	semana 3	733 ± 66	794 ± 81	720 ± 52	

Média ± Desvio Padrão; * p < 0,05 para a comparação entre os grupos

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

Estudo / Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais				
Sankaran 1996	-LHOF em apresentação líquida (Similac Natural Care®)		LHO +Similac Natural Care® (líquido)	LH O+Enfamil® (pó)	p	
		N	22	19	-	
		Ganho de peso (g/dia)	33,0 ± 0,7	30,9 ± 0,1	>0,05	
		Crescimento (cm/semana)	1,2 ± 0,2	0,9 ± 1,1	>0,05	
		PC (cm/semana)	1,2 ± 0,1	0,9 ± 0,1	>0,05	
Média ± Desvio Padrão						
ECR 600-1600g 24 a 34 sem	-LHOF em pó (Enfamil®)		LHO +Similac Natural Care® (líquido)		LHO +Enfamil® (pó)	
			Início do estudo	Final do estudo	Início do estudo	Final do estudo
		Fósforo sérico (mmol/L)	1,9 ± 1	2,0 ± 1	1,9 ± 1	2,2 ± 1
		Cálcio sérico (mmol/L)	2,4 ± 0,03	2,4 ± 0,03	2,4 ± 0,3*	2,5 ± 0,3*
		Fosfatase alcalina sérica (UI/L)	347 ± 21	371 ± 23	420 ± 34 [†]	367 ± 27 [†]
Média ± Desvio Padrão; *p=0,003 entre início e fim do estudo; † p=0,02 entre início e fim do estudo; nas demais comparações, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos						

Resultados da Revisão Sistemática, Comparação LHOV x LHOV, continuação

Estudo / Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais			
			Novo Aditivo	Aditivo referência	p
Porcelli 2000 ECR cego, multicentrico, PN: 600-1500g, IG: 25 - 32 sem	-LHOV novo (ptn 30% >, Wyeth®)	N	35	29	-
		Ganho de peso (g/dia)	26,8 ± 1,3	20,4 ± 1,2	0,0007
		Ganho de peso (g/Kg/dia)	19,7 ± 0,98	16,8 ± 0,96	0,0436
		Crescimento (cm/semana)	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	> 0,05
	-LHOV referência (Enfamil HMF®).	Aumento PC (cm/semana)	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,0354
		Cálcio sérico (mmol/L)	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	>0,05
		Fósforo sérico (mmol/L)	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1	>0,05
		Fosfatase alcalina sérica (UI/L)	290 ± 20	288 ± 29	>0,05
Média ± Desvio Padrão					

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

Estudo / Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais			
		Novo aditivo	Aditivo referência	p	
Reis 2000 ECR duplo cego, PN ≤ 1600g, IG ≤ 33 sem	-LHOF novo (Similac®)	N (ITT*)	64	55	-
		N (PP)	49	40	-
		Ganho de peso (g/Kg/dia) (ITT)	17,6 ± 4,1	14,9 ± 3,2	0,004
		Ganho de peso (g/Kg/dia) (PP)	18,4 ± 3,0	14,3 ± 2,9	0,001
		Crescimento (cm/sem) (ITT)	1,09 ± 0,29	0,95 ± 0,39	0,345
		Crescimento (cm/sem) (PP)	1,11 ± 0,28	0,95 ± 0,33	0,301
	-LHOF de referência (Enfamil®)	Aumento PC (cm/sem) (ITT)	1,04 ± 0,23	0,94 ± 0,25	>0,05
		Aumento PC (cm/sem) (PP)	1,06 ± 0,19	0,84 ± 0,22	0,007
		Fosfatase Alcalina sérica (UI/l) (ITT)	356 ± 24	262 ± 26	0,007
		Fosfatase Alcalina sérica (UI/l) (PP)	NI	NI	0,042
		Fósforo sérico (mg/dl) (ITT)	NI	NI	NS
		Fósforo sérico (mg/dl) (PP)	6,4 ± 0,17	7,0 ± 0,2	0,021
		Cálcio sérico (mg/dl) (ITT)	NI	NI	NS
		Cálcio sérico (mg/dl) (PP)	10,3 ± 0,24	11,2 ± 2,6	0,016

Média ± Desvio Padrão;

* Dos 74 e 70 respectivamente que foram randomizados, 64 e 55 ainda estavam no estudo no DIA 1. Dos excluídos, 5 e 8 respectivamente nunca receberam fortificante e apenas 2 e 5 respectivamente foram excluídos por intolerância gastrointestinal. Demais pacientes saíram por baixa produção láctea, alta, transferência, retirada de consentimento.

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

Estudo / Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais				
Loui 2004	- LHO com oligoelementos (BMF®)	Crescimento do nascimento até 6 semanas	LHO + FM 85®	LHO + BMF®	p	
		n	34	28	-	
		Ganho de peso após recuperar PN (g/Kg/dia)	17,3 (15,2–18,9)	16,0 (13,3–17,3)	<0,05	
		Ganho em comprimento (cm/semana)	0,67 (0,50–1,00)	0,63 (0,40–0,83)	>0,05	
		Ganho em PC (cm/semana)	0,59 (0,42–0,70)	0,63 (0,5–0,67)	<0,01	
ECR, duplo cego, bicentrico, PN 1000-15499g, IG < 33 sem	- LHO sem oligoelementos (FM 85®)		Após 3 semanas		Após 6 semanas	
			LHO + FM 85®	LHO + BMF®	LHO + FM 85®	LHO + BMF®
		n	34	28	34	28
		Cálcio sérico (mg/dl)	103 (96–106)	103 (97–108)	100 (97–104)	104 (98–108)
		Fósforo sérico (mg/dl)	134 (120–148)	153 (138–161)*	135 (124–145)	141 (126–161)
	Fosfatase Alcalina sérica (UI/l)	477 (403–559)	413 (352–517)	436 (400–537)	379 (196–583)‡	
Média (percentis 25 e 75); * p<0,01; ‡ p<0,05						

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

Estudo / Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais			
Berseth 2004	- LHOE suplementado com 1,44mg/Kj de ferro (Enfamil®) - LHOE (Similac®)		Enfamil® (suplementado com ferro)	Similac®	p
		n	96	85	-
		Ganho de peso (g/dia)	17,5 ± 0,53	17,3 ± 0,59	0,63
		Média ± Desvio Padrão			
Arslanoglu 2006	- LHOE padrão (FM 85® 5%) - LHOE ajustável (FM 85® 2,5%, 5%, 6,25%, 6,25% + 0,4 g proteína, 6,25% + 0,8 g proteína)		LHOE padrão	LHOE ajustável	p
		n	16	16	-
		Ganho de peso (g/dia)	24,8 ± 4,8	30,1 ± 5,8	<0,01
		Ganho de peso (g/Kg/dia)	14,4 ± 2,7	17,5 ± 3,2	<0,01
		Crescimento linear (cm/dia)	1,1 ± 0,4	1,3 ± 0,5	>0,05
		PC (cm/dia)	1,0 ± 0,3	1,4 ± 0,3	<0,05
		ECN (n)	0	0	-
Média ± Desvio Padrão;					
Sem diferença entre os grupos nos níveis de Cálcio, Fósforo e Fosfatase Alcalina. Cálcio normal durante o estudo, fósforo e fosfatase alcalina aumentaram com o passar do tempo.					

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

		LHO (100ml) + FM 85® 5%	LHO (50ml) + Pré Nan® (50ml)	p	
Gonçalves 2009	- LHO (FM 85®)	n	11	11	-
		Ganho de peso (g/dia)	23,8 ± 5,3	29,8 ± 6,4	0,03
		Ganho de peso (g/Kg/dia)	15,5 ± 2,4	17,5 ± 3,6	0,03
ECR, duplo cego, PN ≤ 1500g	- LHO (PréNan® volume a volume)	Peso final (g)	2.017 ± 28	2.014 ± 30	0,80
		Comprimento final (cm)	43,1 ± 1,1	43,3 ± 1,1	0,68
		PC final (cm)	30,8 ± 2,6	32,1 ± 0,9	0,16
		Cálcio sérico final (mg/dl)	9,9 ± 1,8	9,8 ± 2,1	0,9
		Fósforo sérico final (mg/dl)	5,6 ± 1,9	7,0 ± 1,9	0,1
		Fosfatase Alcalina sérica final (UI/dl)	315 ± 87	232 ± 95	0,04
		Média ± Desvio Padrão			

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

Estudo /Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais				
Miller 2012	-LHOF alta proteína (1,4g: 100ml)		LHOF alta proteína	LHOF proteína padrão	Diferença média (IC 95%)	p
		N	43	49	-	-
ECR, duplo cego, IG < 31 sem	-LHOF proteína padrão (1g: 100ml)	Ganho C (cm/sem)*	1,15 (1,10–1,19)	1,09 (1,05–1,13)	0,06 (-0,01 a 0,12)	0,08
		Ganho Peso (g/dia)*	24 (20–28)	26 (24–28)	-2 (-7 a 2)	0,33
		Ganho PC (cm/sem)*	0,94 (0,9–0,98)	0,95 (0,92–0,99)	-0,02 (-0,07 a 0,04)	0,56
* Média (percentis 25-75); † Média ± desvio padrão; alta proteína: 1,4 g para 100ml ; proteína padrão: 1 g para 100ml						

Estudo /Desenho	Intervenção x Controle	LHO + Aditivo líquido		LHO + Aditivo pó		p
Moya 2012	-LHOF líquido ultraconcentrado	N	72	74	-	
		Ganho de peso (g/Kg/dia)	15,8 ± 0,5	15,7 ± 0,5	0,8	
ECR, duplo cego, multicentrico, PN ≤ 1250g, IG ≤ 37 sem	-LHOF pó	Crescimento linear (cm/dia)	0,16 ± 0,0006	0,14 ± 0,006	0,03	
		PC (cm/dia)	0,15 ± 0,004	0,14 ± 0,004	0,8	
Média ± Desvio Padrão; D28 : 28 ^o dia de estudo A tabela demonstra apenas os resultados da análise primária.						

Tabela 14 - Resultados da Revisão Sistemática comparando diferentes aditivos multicomponentes, continuação

Estudo /Desenho	Intervenção x Controle	Resultados Principais				
		Fortificação Padrão	Fortificação Moderada	Fortificação Agressiva	p	
Kanmaz 2013 ECR, duplo cego, PN ≤ 1500g, IG ≤ 32 sem	-LHOF padrão (1,2g Eoprotin®: 30ml LHO)	n	26	29	29	-
	-LHOF moderado (1,2g Eoprotin®: 25ml LHO)	Ganho de peso (g/d)	19,7 ± 4,43	20,6 ± 5	21,4 ± 4,7	0,38
		Ganho de peso (g/Kg/d)	16,4 ± 2,2	17,1 ± 3,4	17,8 ± 2,2	0,24
		Aumento PC (cm/sem)	0,69 ± 0,21	0,92 ± 0,22	0,82 ± 0,21	0,001
		Comprimento na alta (cm)	41,7 ± 2,33	42,05 V 2,17	41,7 ± 2,32	0,85
		Cálcio sérico (mg/dl)*	9,5 ± 0,38	9,35 ± 0,66	9,53 ± 0,43	0,24
		Fósforo sérico (mg/dl)*	5,8 ± 0,8	5,9 ± 0,7	5,9 ± 0,7	0,79
		Fosfatase alcalina sérica (U/L)*	1066 ± 335	896 ± 392	878 ± 247	0,07
			Média ± Desvio Padrão; *com 40 semanas de IGC			

ECR: ensaio clínico randomizado; PN: peso de nascimento; IG: idade gestacional; LHO: leite humano ordenhado; LHOF: leite humano ordenhado fortificado; C: comprimento; PC: perímetro cefálico; ECN: enterocolite necrosante; ITT: análise por intenção de tratamento (*intention to treat*); PP: análise por protocolo; NI: não informado; NE: não especificado.

6.4.4 Conclusão

Já está estabelecido que o todo o LH oferecido a prematuros de muito baixo peso ao nascer ou com IG \leq 34 semanas deve ser suplementado com aditivos multicomponentes. A suplementação leva a vantagens em termos de crescimento em curto prazo comparado ao LH puro, sem evidência de aumento no risco de ECN. Além disso, o LH suplementado com aditivos leva a taxas de crescimento semelhantes às aquelas alcançadas pelos bebês em uso de FP, sem a desvantagem de maior incidência de ECN e mantendo os benefícios não nutricionais do LH. Entretanto, não está definido qual o melhor aditivo a ser utilizado. Os onze ensaios clínicos incluídos nesta revisão levaram a taxas de crescimento satisfatórias em todos os grupos. Houve uma tendência a maior crescimento com os aditivos contendo maior quantidade de proteínas, mas isso precisa ser melhor investigado. O risco de ECN foi baixo, mas por se tratar de um evento raro seria necessário número maior de estudos ou de pacientes para se chegar a uma conclusão mais definitiva. Ao que tudo indica, a incidência de doença óssea metabólica é baixa, uma vez que os níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina foram normais na maioria dos estudos.

7. Discussão

O LH é o alimento ideal para RN a termo, porém, embora seja a primeira opção na alimentação de prematuros, ainda existem controvérsias sobre o seu uso nesta população. (8–12) Se por um lado apresenta vantagens sobre as fórmulas, como redução do risco de ECN (13), melhora da interação mãe-bebê (8–12) e diminuição do risco de doenças crônicas degenerativas na vida adulta (7,14–18), por outro lado leva a menores taxas de crescimento pós-natal. (6,8–12) Isso se deve em parte a maior necessidade de proteína, minerais e calorias do recém-nascido prematuro. (8–12) Outra questão que merece destaque é o fato de que nem sempre existe LH da própria mãe em quantidades suficientes, sendo necessário recorrer a leite doado e pasteurizado de BLH. O LH de BLH geralmente foi doado por mulheres com bebês nascidos a termo e tende a apresentar conteúdo energético/protéico menor que as fórmulas para prematuro (20), além de que o processamento pode comprometer ainda mais sua qualidade nutricional (19,20) e o método de administração pode diminuir conteúdo gorduroso oferecido ao paciente, principalmente se administrado por infusão contínua. (25)

Desta forma, foram desenvolvidos aditivos de LH, que são fórmulas multicomponentes contendo uma combinação de carboidratos, proteínas, gorduras, cálcio, fósforo e / ou oligoelementos. O objetivo da utilização dos aditivos seria adequar o aporte de nutrientes ao recém-nascido prematuro, para se atingir taxas de crescimento semelhantes às da vida intrauterina, impedir a doença óssea metabólica e melhorar o desempenho neurocognitivo destes bebês.

A primeira metanálise apresentada nesta pesquisa demonstrou benefícios relacionados ao ganho de peso, aumento de PC e crescimento linear em curto prazo quando RNs prematuros são alimentados com LH suplementado com aditivos multicomponentes, comparado aqueles alimentados com LH puro. Apesar da diferença entre os grupos ser pequena, a análise individual dos estudos revelou taxas de ganho de peso satisfatórias nos prematuros alimentados com LH fortificado, semelhantes ao crescimento intrauterino, em todos os estudos. Especula-se que, numa internação prolongada, qualquer aumento na velocidade de crescimento possa ter benefícios indiretos, como diminuição de tempo de internação. Além disso, a maioria dos ensaios clínicos incluídos é anterior ao ano 2000, e talvez, se os estudos fossem realizados nos dias atuais, o benefício poderia ser maior, uma vez que os aditivos se modificaram ao longo do tempo para melhor atender às necessidades dos prematuros. Entretanto, com o benefício dos aditivos multicomponentes já estabelecido, seria antiético realizar um estudo placebo controlado neste caso, o que impediu a inclusão de estudos mais recentes.

A partir daí, tornou-se importante comparar o LH suplementado com aditivos multicomponentes às FP. Isso porque já se sabe que prematuros alimentados com fórmula crescem mais, mas que, por outro lado, apresentam maior incidência de ECN e deixam de se beneficiar das vantagens não nutricionais do leite materno. (6,8–12)

Esta metanálise não demonstrou evidência de diferença estatisticamente significativa na taxa de ganho de peso ou de crescimento de PC entre os prematuros alimentados com FP e aqueles alimentados com LH fortificado. Isso pode ser considerado uma vantagem a favor da utilização do LH suplementado com aditivos,

que além de levar a taxas de crescimento semelhantes a da alimentação com FP, apresenta inúmeros outros benefícios em saúde, em curto e longo prazo.(13) Se analisarmos os estudos primários incluídos nesta metanálise, percebemos que o ganho de peso foi sempre satisfatório e próximo ao intrauterino nos bebês alimentados com leite humano fortificado. A taxa de crescimento linear foi maior nos RN alimentados com FP que naqueles alimentados com LH suplementado com aditivos. Aqui cabe uma análise. Em primeiro lugar, o comprimento é uma medida menor precisão que o peso e o PC em RN e bebês pequenos, e por este motivo o peso é considerado o melhor parâmetro para avaliar o crescimento nesta faixa etária(62). Em segundo lugar, menores PCs são preditores de piores desfechos neurocognitivos (3,22), e por isso, apesar de menor crescimento linear, um crescimento semelhante de PC ainda pode ser considerado um excelente ponto a favor da utilização do LH suplementado com aditivos em detrimento a FP.

Pelo exposto conclui-se que a utilização do LHOF é eficaz, pois leva a crescimento semelhante ao intrauterino e equivalente ao crescimento que ocorre na alimentação com FP. Com isso mantemos as vantagens do aleitamento materno sem os prejuízos da fórmula, e este seria o padrão ouro para a alimentação de prematuros com PN \leq 1500 g e IG de nascimento \leq 34 semanas.

Entretanto algumas perguntas continuam sem resposta:

- Qual o efeito no desenvolvimento e crescimento em longo prazo ao alimentar esta população com LH suplementado com aditivos?
- Qual o efeito do aditivo no risco real de enterocolite necrosante, de doença óssea metabólica e de óbito?

Não foram identificados estudos que avaliassem o desenvolvimento em longo prazo de recém-nascidos alimentados com LHOF, seja comparado ao LH puro ou à FP. Também não foram identificados estudos que avaliassem o risco de óbito em nenhuma das comparações.

Em relação ao risco de ECN, não houve evidência de que os aditivos aumentem seu risco comparado ao LH puro ou à FP. Entretanto, a ECN foi um evento pouco comum, o que pode ter influenciado o resultado. A ECN, embora devastadora, apresenta incidência baixa, em torno de 6% (63,64), portanto o desenho ensaio clínico não é o mais adequado para avaliar esta variável, pois seria necessário um número muito grande de pacientes para detectar diferença entre os grupos.

O risco de doença óssea metabólica não foi avaliado por nenhum estudo em ambas as comparações. O que a maior parte dos estudos avaliou foram os níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, que poderiam ser um dado indireto da frequência da doença óssea metabólica. Na comparação entre LHOF e LH puro, não houve evidência de diferença entre os grupos nos níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina. Já na comparação de LHOF com FP os níveis de cálcio e fosfatase alcalina tenderam a ser maiores e os de fósforo menores com LHOF. Entretanto, isso tem pouco significado clínico, principalmente porque quando olhamos os dados primários percebemos que os valores são sempre normais, exceto para um estudo pequeno, de Modanlou e colaboradores (36), onde os níveis de fosfatase alcalina foram elevados nos dois grupos.

Mais estudos são necessários para responder a essas perguntas.

Por fim, uma vez que está estabelecido que o aditivo multicomponente deve ser utilizado, uma última pergunta deve ser feita:

- Qual o melhor aditivo a ser utilizado?

Para responder a esta pergunta, foi realizada uma revisão sistemática da literatura. Não foi possível realizar uma metanálise pois entre os 11 ensaios clínicos incluídos nesta revisão a variedade de aditivos foi enorme. Além disso, os aditivos se modificaram ao longo do tempo para melhor atender às necessidades dos prematuros, o que impossibilitou seu agrupamento para análise.

Todos os estudos, independente do aditivo utilizado, demonstraram taxas de crescimento satisfatório, semelhante ao intrauterino, em todos os braços de tratamento. Houve uma tendência a maior crescimento em curto prazo com a utilização de aditivos com maior conteúdo proteico, tanto nos estudos que utilizaram esquemas de dose fixa de aditivo quanto naqueles que utilizaram esquemas de dose ajustada pelos níveis séricos de proteína. Entretanto, a relação causal ainda precisa ser investigada. A questão dos aditivos em apresentação líquida vem sendo estudada, pois eles se dissolvem de forma mais homogênea no LH e apresentam menor risco de contaminação que os aditivos em pó, por outro lado, os RN que utilizam aditivos em forma líquida recebem quantidades menores de LH, que tem alguns de seus fatores bioativos diluídos. (23,24) Apesar dessas desvantagens, os ensaios clínicos que compararam um aditivo em apresentação líquida a um aditivo em pó não demonstraram diferença estatisticamente significativa em termos de crescimento em curto prazo.

Os poucos estudos que avaliaram ECN não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos, mas este foi um evento raro. Ao que tudo indica, a incidência de doença óssea metabólica é baixa, uma vez que os níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina foram normais na maioria dos estudos, mas este parâmetro ainda precisa ser melhor avaliado.

A metanálise apresenta algumas limitações, que se repetiram nas três comparações que compõe esta dissertação. Entre elas destaca-se o viés de seleção, pois todos os estudos incluíram apenas RN em condições relativamente boas de saúde, excluindo justamente aqueles que estão em maior risco de desnutrição e poderiam mais se beneficiar de uma intervenção que melhore as taxas de crescimento pós-natal. Além disso, a maioria dos estudos não seguiu metodologia rígida. A maior parte deles incluiu pequeno número de sujeitos, poucos informaram cálculo do tamanho amostral, nem todos foram adequadamente randomizados e a maioria avaliou os resultados apenas para os que completaram os estudos. Os estudos incluídos na comparação entre diferentes aditivos foram de modo geral de melhor qualidade metodológica, provavelmente por se tratarem, em sua maioria, de estudos mais recentes. Vale lembrar, que na comparação entre LHOE e FP os estudos não foram randomizados por sua própria natureza, uma vez que dependiam do desejo da mãe em amamentar e da disponibilidade de leite materno para a alocação dos pacientes. Não se pode descartar que isso tenha influenciado no resultado final.

Concluindo, apesar das limitações, já existem subsídios para recomendar que todo LH oferecido a prematuros com PN \leq 1500 g ou com IG de nascimento \leq 34 semanas seja suplementado com aditivos multicomponentes e que esta é uma

prática eficaz e segura. A utilização de LH suplementado com aditivos multicomponentes deve ser a primeira escolha na alimentação desta população, uma vez que leva a taxa de crescimento semelhante a dos RNs alimentados com fórmula, mantendo os benefícios do leite materno, sem as desvantagens da alimentação artificial. (13) Entretanto, o melhor aditivo ainda precisa ser determinado.

O Brasil dispõe de uma das maiores e mais importantes redes de bancos de LH do mundo, que fornece LHOP para um enorme número de bebês a cada ano, mas que não recomenda a utilização de rotina dos aditivos de LH. (19) Os resultados desta pesquisa serão úteis na elaboração de protocolos e diretrizes de tratamento, com o objetivo de tornar norma a utilização dos aditivos multicomponentes dentro das UTI neonatais do Sistema Único de Saúde (SUS) e de aumentar ainda mais o estímulo ao início e a manutenção do aleitamento materno. Desta forma, os prematuros de muito baixo peso ao nascer ou com IG \leq 34 semanas terão a possibilidade de receber a melhor dieta possível, com impactos positivos em sua saúde.

9. Referências Bibliográficas*

1. DATASUS. www.datasus.gov.
2. Fanaro S, Vigi V. Weaning preterm infants: an open issue. *J pediatr gastroenterol nutr.* 2007;45:S204–S209.
3. Tan M, Abernethy L, Cooke R. Improving head growth in preterm infants - a randomised controlled trial II: MRI and developmental outcomes in the first year. *Arch dis child fetal neonatal ed.* 2008;93:F342–F346.
4. Gianini NM, Vieira A a., Moreira MEL. Avaliação dos fatores associados ao estado nutricional na idade corrigida de termo em recém-nascidos de muito baixo peso. *J pediatr (Rio J).* 2005;81:34–40.
5. Lima P, de Carvalho M, da Costa A, Moreira M. Variables associated with extra uterine growth restriction in very low birth weight infants. *J pediatr (Rio J).* 2014;90:22–7.
6. Schanler R, Schulman R, Chantal L. Feeding Strategies for Premature Infants: Beneficial Outcomes of Feeding Fortified Human Milk Versus Preterm Formula. *Pediatrics.* 1999;103:1150–7.
7. Lucas A. Long-term programming effects of early nutrition - implications for the preterm infant. *J perinatol.* 2005;25 Suppl 2:S2–6.
8. Kuschel C, Harding J. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(1):CD000343.
9. Kuschel CA, Harding JE, Kumaran VS. Calcium and phosphorus supplementation of human milk for preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;(4):CD003310.
10. Kuschel CA, Harding JE. Protein supplementation of human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD000433.
11. Kuschel CA, Harding JE. Carbohydrate supplementation of human milk to promote growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002;(2):CD000280.
12. Kuschel CA, Harding JE, Kumaran VS. Fat supplementation of human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002;(2):CD000341.

* As normas para elaboração das Referências Bibliográficas seguem as adotadas pelo programa de Pós Graduação em Saúde da Mulher e da Criança do IFF - Fiocruz.

13. Ip S, Chung M, Raman G, Chew P, Magula N, DeVine D, et al. Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *Evid rep technol assess (Full rep)*. 2007;153:1–186.
14. Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Breastmilk feeding and lipoprotein profile in adolescents born preterm: follow-up of a prospective randomised study. *Lancet*. 2004;363:1571–8.
15. Singhal A, Farooqi IS, O’Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. *Am j clin nutr*. 2002;75:993–9.
16. Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Deanfield J, Lucas A. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation*. 2004;109:1108–13.
17. Singhal A, Cole T, Lucas A. Early nutrition in preterm infants and later blood pressure: two cohorts after randomised trials. *Lancet*. 2001;357:413–9.
18. Singhal A, Fewtrell M, Cole T, Lucas A. Mechanisms of disease Low nutrient intake and early growth for later insulin resistance in adolescents born preterm. *Lancet*. 2003;361:1089–97.
19. ANVISA. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de Leite Humano : Funcionamento , Prevenção e Controle de Riscos. Brasília: ANVISA. 2008.
20. Wight N. Donor Human Milk for Preterm Infants. *J perinatol*. 2001;21:249–54.
21. Schanler R. Suitability of human milk for the low-birthweight infant. *Clin Perinatol*. 1985;22:207–22.
22. Ehrenkranz R a, Das A, Wrage L a, Poindexter BB, Higgins RD, Stoll BJ, et al. Early nutrition mediates the influence of severity of illness on extremely LBW infants. *Pediatr Res*. 2011;69:522–9.
23. Moya F, Sisk P, Walsh K, Berseth C. A new liquid human milk fortifier and linear growth in preterm infants. *Pediatrics*. 2012;130:e928–35.
24. Sankaran K, Papageorgiou A, Ninan A, Sankaran R. A randomized, controlled evaluation of two commercially available human breast milk fortifiers in healthy preterm neonates. *J Am Diet Assoc*. 1996;96:1145–9.
25. Abranches A, Soares F, Junior S-C, Moreira M. Freezing and thawing effects on fat, protein, and lactose levels of human natural milk administered by gavage and continuous infusion. *J pediatr (Rio J)*. 2014;90:384-8.
26. Vieira AA, Soares FVM, Pimenta HP, Abranches AD, Moreira MEL. Analysis of the influence of pasteurization, freezing/thawing, and offer processes on

- human milk's macronutrient concentrations. *Early Hum Dev.* Elsevier Ireland Ltd; 2011;87:577–80.
27. <http://www.redeblh.fiocruz.br>. [Acessado em 15/04/2014]
 28. ANVISA. Resolução RDC nº 171, de 4 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Leite Humano. 2006.
 29. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman D, Group P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *BMJ.* 2009;339:b2535.
 30. Gross S. Bone mineralization in preterm infants fed human milk with and without mineral supplementation. *J pediatr (St Louis)* 1987;111:450–8.
 31. Zuckerman M, Pettifor J. Rickets in Very-Low-Birthweight Infants Born at Baragwanath Hospital. *S Afr med j.* 1994;84:216–20.
 32. Bhat B, Gupta B. Effects of human milk fortification on morbidity factors in very low birth weights infants. *Ann Saudi med.* 2001;21:292–5.
 33. Carey D, Rowe J, Goetz C, Horak E, Clark R, Goldberg B. Growth and phosphorus metabolism in premature infants fed human milk, fortified human milk, or special premature formula. Use of serum procollagen as a marker of growth. *Am j dis child.* 1987;141:511–5.
 34. Greer F, McCormick A. Improved bone mineralization and growth in premature infants fed fortified own mother's milk. *J pediatr (St Louis).* 1988;112:961–9.
 35. Kashyap S, Schulze K, Forsyth M, Dell R, Ramakrishnan R, Heird W. Growth, nutrient retention, and metabolic response of low-birth-weight infants fed supplemented and unsupplemented preterm human milk. *Am j clin nutr.* 1990;52:254–62.
 36. Modanlou HD, Lim MO, Hansen JW S V. Growth, biochemical status, and mineral metabolism in very-low-birth-weight infants receiving fortified preterm human milk. *J pediatr gastroenterol nutr.* 1986;5:762–7.
 37. Pettifor J, Rajah R, Venter A, Moodley G, Opperman L, Cavaleros M, et al. Bone mineralization and mineral homeostasis in very low-birth-weight infants fed either human milk or fortified human milk. *J pediatr gastroenterol nutr.* 1989;8:217–24.
 38. Polberger S, Axelsson IA, Råihä N. Growth of very low birth weight infants on varying amounts of human milk protein. *Pediatr res.* 1989;25:414–9.

39. Faerk J, Petersen S, Peitersen B, Michaelsen K. Diet and Bone Mineral Content at Term in Premature Infants. *Pediatr res.* 2000;148–56.
40. Mukhopadhyay K, Narnag A, Mahajan R. Effect of human milk fortification in appropriate for gestation and small for gestation preterm babies: a randomized controlled trial. *Indian pediatr.* 2007;44:286–90.
41. Wauben I, Atkinson S, Grad T, Shah J, Paes B. Moderate nutrient supplementation of mother's milk for preterm infants supports adequate bone mass and short-term growth: a randomized controlled trial. *Am j clin nutr.* 1998;67:465–72.
42. Nicholl RM, Gamsu HR. Changes in growth and metabolism in very low birthweight infants fed with fortified breast milk. *Acta paediatr.* 1999;88:1056–61.
43. Martins E, Krebs V. Effects of the use of fortified raw maternal milk on very low birth weight infants. *J pediatr (Rio J).* 2009;85:157–62.
44. Schanler R. THE USE OF HUMAN MILK FOR PREMATURE INFANTS. *Pediatr clin North Am.* 2001;48:207–19.
45. Schanler R, Garza C, Smith E. Fortified mothers' milk for very low birth weight infants: Results of macromineral balance studies. *J pediatr (St Louis).* 1985;107:767–74.
46. Doege C, Bauer J. Effect of high volume intake of mother's milk with an individualized supplementation of minerals and protein on early growth of preterm infants <28 weeks of gestation. *Clin nutr (Edinb).* 2007;26:581–8.
47. Ehrenkranz R, Gettner P, Nelli C. Nutrient Balance Studies in Premature Infants Fed Premature Formula or Fortified Preterm Human Milk. *J pediatr gastroenterol nutr.* 1989;8:58–67.
48. Mataloun M, Leone C, Ono N, Vaz F. Repercussões neonatais do uso de leite materno com aditivos e fórmula para pré-termo em recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer. *Pediatr (São Paulo).* 2004;26:247–56.
49. Schanler RJ, Garza C NB. Fortified mothers' milk for very low birth weight infants: results of growth and nutrient balance studies. *J pediatr (St Louis).* 1985;107:437–45.
50. Cow and Gate. <http://www.cowandgate.co.uk/products/baby-milk/special-milk>.
51. Laguna RT, Claudio VS. Nutrition and diet therapy reference dictionary. 4th ed. Hall C&, editor. New York; 1991.

52. Galeano N, Darling P, Lepage G, Leroy C, Collet S, Giguère R, et al. Taurine supplementation of a premature formula improves fat absorption in preterm infants. *Pediatr res.* 1987;22:67–71.
53. Moro GE, Minoli I, Ostrom M, Jacobs JR, Picone TA, Räihä NC ZE. Fortification of human milk: evaluation of a novel fortification scheme and of a new fortifier. *J pediatr gastroenterol nutr.* 1995;20:162–72.
54. Porcelli P, Schanler R, Greer F, Chan G, Gross S, Mehta N, et al. Growth in human milk-Fed very low birth weight infants receiving a new human milk fortifier. *Ann nutr metab.* 2000;44:2–10.
55. Reis B, Hall R, Schanler R, Berseth C, Chan G, Ernst J, et al. Enhanced growth of preterm infants fed a new powdered human milk fortifier: A randomized, controlled trial. *Pediatrics.* 2000;106:581–8.
56. Loui A, Raab A, Wagner M, Weigel H, Grüters-Kieslich A, Brätter P, et al. Nutrition of very low birth weight infants fed human milk with or without supplemental trace elements: a randomized controlled trial. *J pediatr gastroenterol nutr.* 2004;39:346–53.
57. Berseth C, Van Aerde J, Gross S, Stolz S, Harris C, Hansen J. Growth, efficacy, and safety of feeding an iron-fortified human milk fortifier. *Pediatrics.* 2004;114:e699–706.
58. Arslanoglu S, Moro G, Ziegler E. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference? *J perinatol.* 2006;26:614–21.
59. Gonçalves A, Jorge S, Gonçalves A. Comparação entre duas dietas à base de leite humano em relação ao crescimento e à mineralização óssea de recém-nascidos de muito baixo peso. *Rev paul pediatr.* 2009;27:395–401.
60. Kanmaz H, Mutlu B, Canpolat F, Erdeve O, Oguz S, Uras N, et al. Human milk fortification with differing amounts of fortifier and its association with growth and metabolic responses in preterm infants. *J hum Lact.* 2013;29:400–5.
61. Miller J, Makrides M, Gibson R, Mc Phee A, Stanford T, Morris S, et al. Effect of increasing protein content of human milk fortifier on growth in preterm infants born at , 31 wk gestation: a randomized controlled. *Am j clin nutr.* 2012;95:648–55.
62. Kliegman R, Bherman R, Jenson H, Stantin B. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 18th ed. Elsevier S, editor. Philadelphia; 2007.
63. Ganapathy V, Hay J, Kim J. Costs of necrotizing enterocolitis and cost-effectiveness of exclusively human milk-based products in feeding extremely premature infants. *Breastfeed med.* 2012;7:29–37.

64. Horbar J, Soll R, Edwards W. The Vermont Oxford Network: a community of practice. *Clin perinatol*. 2010;37:29–47.
65. Gathwala G, Kumar C, Shaw P, Batra R. Effect of fortification of breast milk on the growth of preterm neonates. *East J Med*. 2012;17:30–5.
66. Biasini A, Marvulli L, Neri E, China M, Stella M, Monti F. Growth and neurological outcome in ELBW preterms fed with human milk and extra-protein supplementation as routine practice: do we need further evidence? *J Matern fetal neonatal med*. 2012;25 Suppl 4:72–4.
67. Biasini A, Neri C, China MC, Monti F, Di Nicola P BE. Higher protein intake strategies in human milk fortification for preterms infants feeding. Auxological and neurodevelopmental outcome. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2012;26 (3 Supp):43–7.
68. Rochow N, Jochum F, Redlich A, Korinekova Z, Linnemann K, Weitmann K, et al. Fortification of breast milk in VLBW infants: metabolic acidosis is linked to the composition of fortifiers and alters weight gain and bone mineralization. *Clin Nutr (Edinb)*. Elsevier Ltd; 2011;30:99–105.
69. Aceti A, Corvaglia L, Paoletti V, Mariani E, Ancora G, Galletti S, et al. Protein content and fortification of human milk influence gastroesophageal reflux in preterm infants. *J pediatr gastroenterol nutr*. 2009;49:613–8.
70. Yigit S, Akgoz A, Memisoglu A, Akata D, Ziegler E. Breast milk fortification: effect on gastric emptying. *J Matern fetal neonatal med*. 2008;21:843–6.
71. Tanaka A, Rugolo L, Miranda A, Trindade C. Fractional sodium excretion, urinary osmolality and specific gravity in preterm infants fed with fortified donor human milk. *J pediatr (Rio J)*. 2006;82:335–40.
72. De Schepper J, Cools F, Vandenplas Y, Louis O. Whole body bone mineral content is similar at discharge from the hospital in premature infants receiving fortified breast milk or preterm formula. *J pediatr gastroenterol nutr*. 2005;41:230–4.
73. De Boo H, Cranendonk A, Kulik W, Harding J, Lafeber H. Whole body protein turnover and urea production of preterm small for gestational age infants fed fortified human milk or preterm formula. *J pediatr gastroenterol nutr*. 2005;41:81–7.
74. Agarwal R, Singal A, Aggarwal R, Deorari A, Paul V. Effect of Fortification with Human Milk Fortifier (HMF) and other Fortifying Agents on the Osmolality of preterm Breast Milk. *Indian pediatr*. 2004;41:63–7.
75. Torres G, Argés L, Figueroa M. Leche humana y nutrición en el prematuro pequeño. *Nutr hosp*. 2004;19:236–42.

76. Faerk J, Peitersen B, Petersen S, Michaelsen K. Bone mineralisation in premature infants cannot be predicted from serum alkaline phosphatase or serum phosphate. *Arch dis child fetal neonatal ed.* 2002;87:F133–6.
77. Moody G, Schanler R, Lau C, Shulman R. Feeding tolerance in premature infants fed fortified human milk. *J pediatr gastroenterol nutr.* 2000;30:408–12.
78. Schanler R, Schulman R, Chantal L. Feeding Strategies for Premature Infants: Beneficial Outcomes of Feeding Fortified Human Milk Versus Preterm Formula. *Pediatrics.* 1999;103:1150–7.
79. Lucas A, Lucas J, Fewtrell S. Randomized developmental outcome trial of human milk fortification outcome in preterm infants. *Am j clin nutr.* 1996;64:142–51.
80. Ewer A, Yu V. Gastric emptying in pre-term infants: the effect of breast milk fortifier. *Acta Paediatr.* 1996;85:1112–5.
81. Schanler R, Abrams S. Postnatal attainment of intrauterine macromineral accretion rates in low birth weight infants fed fortified human milk. *J pediatr (St Louis).* 1995;126:441–7.
82. Metcalf R, Dilena B, Gibson R, Marshall P, Simmer K. How appropriate are commercially available human milk fortifiers? *J paediatr child Heal.* 1994;30:350–5.
83. Raschko P, Hiller J, Benda G, Buist N, Wilcox K, Reynolds J. Nutritional balance studies of VLBW infants fed their mothers' milk fortified with a liquid human milk fortifier. *J pediatr gastroenterol nutr.* 1989;9:212–8.

Apêndice 1- Formulário de extração de dados

FORMULÁRIO DE EXTRAÇÃO DE DADOS

Status	Incl / Excl / Dúvida
Final:	

Revisor:

Data:

Título:			
1º: autor			
Referência:			
Desenho do Estudo:			
População:			
Randomização:			
Intervenção:		N:	
Controle:		N:	
Desfecho primário:			
Desfechos Secundários:			
Metodologia Adequada?		Perda de seguimento	
Resultados			
Observação: (incluindo viés)			

Apêndice 2 – Estudos avaliados na íntegra e excluídos

Estudo	Intervenção	Desenho do Estudo	Motivo da exclusão
Kuschel 2014 (8)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Revisão Sistemática com metanálise	Desenho do estudo e não preencheu critérios de inclusão
Gathwala 2012 (65)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado, randomizado	Não preencheu critérios de inclusão
Biasini 2012 A (66)	LH com aditivos multicomponentes x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado	Metodologia inadequada
Biasini 2012 B (67)	LH com aditivos multicomponentes x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado	Duplicata de Biasini 2012 A, excluído por metodologia inadequada
Rochow 2011 (68)	LH com aditivos multicomponentes x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado, randomizado, duplo cego	Desfecho fora do escopo
Aceti 2009 (69)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado, randomizado, desenho cruzado, cego	Desfecho fora do escopo
Ygit 2008 (70)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado, randomizado, desenho cruzado, cego	Desfecho fora do escopo
Tanaka 2006 (71)	LH com aditivo multicomponente	Ensaio clínico não controlado tipo antes e depois	Desenho do estudo
De Schepper 2005 (72)	LH com aditivos multicomponentes x FP	Ensaio clínico controlado,	Desfecho fora do escopo
De Boo 2005 (73)	LH com aditivos multicomponentes x FP	Ensaio clínico controlado,	Desfecho fora do escopo
Agarwal 2004 (74)	LH com aditivos multicomponentes x LH com óleo de coco x FP	Ensaio clínico prospectivo, cego	Desfecho fora do escopo e metodologia inadequada
Torres 2004 (75)	LH com aditivos multicomponentes x FP	Comparação de grupo prospectivo com coorte histórica	Desfecho fora do escopo e metodologia inadequada

Faerk 2002 (76)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes x fórmula	Ensaio clínico controlado, randomizado, duplo cego	Duplicata de Faerk 2000, incluído na metanálise
Moody 2000 (77)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Análise pós hoc de ensaio clínico controlado	Desenho do estudo
Schanler 1999 (78)	LH com aditivos multicomponentes x FP	Análise pós hoc de ensaio clínico controlado	Desenho do estudo
Lucas 1996 (79)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado, randomizado	Não preencheu critérios de inclusão
Ewer 1996 (80)	LH puro x LH com aditivos multicomponentes	Ensaio clínico controlado, randomizado, desenho cruzado, cego	Desfecho fora do escopo
Schanler 1995 (81)	LH com aditivos multicomponentes x LH com aditivos multicomponentes	Coorte retrospectiva	Desenho do estudo
Metclaf 1994 (82)	LH com aditivos multicomponentes x LH com aditivos multicomponentes x FP	Ensaio clínico controlado, randomizado	Metodologia inadequada
Raschko 1989 (83)	LH com aditivos multicomponentes x FP	Ensaio clínico controlado	Desfecho fora do escopo
Schanler 1985 B (45)	LH com aditivos multicomponentes x FP	Ensaio clínico controlado	Duplicata de Schanler 1985 B, incluído na metanálise

Anexo 1 – PRISMA 2009 Check list.

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	Capa
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	xi
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	17-9 e 21-3
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	24 e 35
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if	-

		available, provide registration information including registration number.	
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	36,38-9
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	36
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	37
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	36-41
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	Appendice 1
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	39
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	40-1

Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	40-1
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	51
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	42-3
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	53-9 89-92 123-4
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	48-51 85-6 117-9
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest	132-41

		plot.	
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	66 (68-75) 98 (99-105)
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	48-51 85-6 117-9
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	67 (76-82)
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	144-9
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	145, 147-8
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	151
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role	-

		of funders for the systematic review.	
--	--	---------------------------------------	--

Fonte: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses www.prisma-statement.org.(29)