



Particularidades imunológicas do pré-termo extremo: um desafio para a prevenção da sepse hospitalar

*Immunological peculiarities of extremely preterm infants:
a challenge for the prevention of nosocomial sepsis*

Marisa M. Mussi-Pinhata¹, Maria A. C. Rego²

Resumo

Objetivo: Realizar revisão sobre os principais aspectos do desenvolvimento imunológico fetal, salientando a defesa de prematuros extremos contra patógenos bacterianos e descrevendo a situação atual de intervenções imunoterapêuticas para a prevenção de sepse hospitalar.

Fontes dos dados: Obtiveram-se, por meio de busca eletrônica, no banco de dados MEDLINE, artigos publicados nos últimos 15 anos referentes ao tema, e foram selecionados aqueles que trouxessem informações relevantes.

Síntese dos dados: A imunidade de prematuros extremos é deficiente devido à fragilidade da pele, à carência dos produtos de ativação do sistema complemento, ao menor *pool* de reserva de precursores de neutrófilos na medula óssea e à quimiotaxia, aderência, deformabilidade e atividade enzimática neutrofílica reduzidas. Limitações adicionais são detectadas na citotoxicidade de células NK, na proliferação e produção de citocinas dos linfócitos T, na cooperação entre células T e B e na síntese de anticorpos pelos linfócitos B. Ainda não foram demonstrados benefícios definitivos de intervenções para incremento da função imunológica dessas crianças, tais como o uso de imunoglobulinas endovenosas e de fatores estimuladores de colônias mielóides.

Conclusão: Em consequência à imaturidade de diversos componentes da imunidade, prematuros extremos são altamente suscetíveis a infecções nosocomiais. As possibilidades ainda muito limitadas para a intervenção nesse sistema fazem com que o controle dos fatores extrínsecos sejam essenciais para a prevenção da sepse nosocomial nessas crianças.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(1 Supl):S59-S68: Recém-nascido prematuro, imunidade, infecção hospitalar, imunoterapia.

Introdução

Durante décadas, os avanços nos cuidados intensivos têm possibilitado maior sobrevivência aos recém-nascidos prematuros extremos, ou seja, aqueles de peso ao nascer inferior a 1.000 g. Isso é detectado não somente nos países desenvolvidos, mas também no Brasil. Há 20 anos,

1. Livre-docente em Pediatria. Professora associada, Departamento de Puericultura e Pediatria, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP.

2. Mestre em Pediatria. Médica assistente, Dep. de Puericultura e Pediatria, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP.

Como citar este artigo: Mussi-Pinhata MM, Rego MA. Particularidades imunológicas do pré-termo extremo: um desafio para a prevenção da sepse hospitalar. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81(1 Supl):S59-S68.

Abstract

Objective: To review the main aspects of fetal immune development focusing on the host defenses of extremely preterm infants against bacterial pathogens, and describing the possibilities of immunotherapeutic intervention for the prevention of neonatal nosocomial sepsis.

Sources of data: Electronic search of MEDLINE database for articles published in the last 15 years. Those with relevant information regarding the target issue were selected.

Summary of the findings: Immunity of extremely preterm infants is deficient due to skin fragility, insufficient complement system components, decreased bone marrow neutrophil storage pool, and lower chemotaxis, adherence, deformability, and neutrophil enzyme activities. Further limitations are found at NK cell-mediated cytotoxicity, T cell proliferation and cytokine production, B and T cell cooperation, and antibody synthesis by B lymphocytes. No definitive benefits of interventions for enhancing the immune function, such as the use of intravenous immunoglobulin or myeloid colony-stimulating factors, have been demonstrated.

Conclusion: As a consequence of the immaturity of several immune components, extremely preterm infants are highly susceptible to nosocomial infections. The very limited possibilities for intervention in this system require the control of extrinsic factors for the prevention of nosocomial sepsis in these infants.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(1 Supl):S59-S68: Premature infant, immunity, nosocomial infection, immunotherapy.

50% das crianças com peso ao nascer < 1.500 g, assistidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP), não sobreviviam, comparativamente aos 19% dos dias atuais. Essa maior sobrevivência tem sido associada à elevação da incidência de infecção nosocomial nas unidades de terapia intensiva neonatal. O risco de sepse é inversamente proporcional à idade gestacional. A prevalência de sepse e meningite tem sido estimada em várias populações de recém-nascidos, variando de 1 a 5/1.000 nascidos vivos. Entretanto, no prematuro, estima-se que essa prevalência seja tão elevada quanto 1/230 recém-nascidos, sendo que a sepse é comum nesse grupo de crianças¹.

Exemplificando a elevada frequência de infecção nosocomial em recém-nascidos prematuros extremos, dados recentes da rede de pesquisas neonatais norte-americana² indicam incidência geral de sepse hospitalar de 21%, com frequência significativamente maior quanto menor a idade gestacional (Tabela 1). No Brasil, em estudo observacional realizado no ano de 2001, em sete unidades de terapia intensiva neonatal de centros universitários, foi necessário o uso de antibióticos por mais de 5 dias em 290 de 514 (56,6%) recém-nascidos com idade gestacional inferior a 34 semanas, sendo que, em 81 desses (27,9%), o cultivo microbiológico de sangue resultou positivo³. Dados de vigilância epidemiológica de infecções nosocomiais na unidade de terapia intensiva neonatal do HCFMRP-USP, durante o ano de 2001, indicaram taxas de incidência acumulada de infecções de 57,3 e 43,9 por 100 crianças expostas a risco, e com peso ao nascer \leq 1.000.g e entre 1.001 e 1.500 g, respectivamente⁴. Nessa unidade, as densidades de incidência de infecção nosocomial observadas nesse período foram de 34,6 e 42,7 por 1.000 pacientes/dia, em prematuros com peso \leq 1.000 g e entre 1.001 a 1.500 g, respectivamente⁴. Também em prematuros extremos, densidades de incidência de infecções nosocomiais ainda mais elevadas foram detectadas em outra unidade brasileira⁵. Geralmente, as taxas de mortalidade por sepse neonatal variam de 15% a 60%, dependendo da idade gestacional, do patógeno envolvido, da idade de ocorrência da doença no período neonatal e da adequação dos cuidados intensivos¹. A taxa de mortalidade para os recém-nascidos < 1.500 g sépticos foi de 18%, significativamente maior do que a de crianças sem infecção (7%) no estudo da rede norte-americana neonatal². Na unidade neonatal do HCFMRP-USP, 17,6% dos 324 recém-nascidos sob vigilância no ano de 2001 foram a óbito, sendo que a ocorrência de óbito foi significativamente mais frequente nas crianças com diagnóstico de infecção nosocomial do que naquelas em que esse diagnóstico não foi feito (21,6% *versus* 12,8%), havendo também a demonstração de que a infecção foi a causa associada ao óbito na maioria (75,7%) das crianças que apresentaram um ou mais episódios de infecção, principalmente nas categorias de peso ao nascer < 1.000 g⁴.

O conjunto desses dados nos remete à necessidade de compreensão dos fatores associados à sepse hospitalar em

recém-nascidos pré-termo extremos. Vários são os fatores que predis põem essas crianças à sepse hospitalar:

1. Os fatores extrínsecos expõem com muita frequência o recém-nascido prematuro à infecção durante a hospitalização. Entre esses, incluem-se a duração da hospitalização, o uso de procedimentos invasivos (cateteres arteriais e venosos, nutrição parenteral, cânulas traqueais, sonda gástrica ou gastroduodenais, derivações ventrículo-peritoniais, drenos torácicos, etc.), as características da exposição ao ambiente hospitalar e ao pessoal do hospital, ou seja, relação enfermagem/paciente, área física, treinamento do pessoal, técnicas de higiene, técnicas de controle de infecção hospitalar e padrão de uso de antimicrobianos na unidade. A superlotação, o número insuficiente de cuidadores e a pressão seletiva de antibióticos exacerbam a chance de aquisição de infecção por patógenos potencialmente virulentos⁶.
2. Os fatores intrínsecos referem-se à imaturidade do desenvolvimento do sistema imunológico e das funções de barreira da pele, mucosas e trato gastrointestinal. O peso ao nascer é provavelmente o marcador substituto para esses fatores intrínsecos. Entretanto, a gravidade da doença varia entre crianças de mesmo peso ao nascer e também se caracteriza como importante fator de risco para a morbidade e mortalidade.

De maneira geral, recém-nascidos localizam insuficientemente algumas infecções bacterianas, havendo tendência à sua disseminação sistêmica. Algumas funções do sistema imunológico são imaturas, enquanto outros aspectos são funcionais ao nascimento, mesmo em recém-nascidos muito prematuros. Nesse artigo, revisaremos as principais particularidades imunológicas do prematuro extremo, com vistas a avaliar as bases para a suscetibilidade à infecção.

Aspectos gerais do sistema imunológico

A função principal do sistema imunológico é prover proteção ao hospedeiro contra a invasão de microorganismos⁷.

A primeira linha de defesa contra os invasores é a barreira física composta pela pele queratinizada, membranas mucosas que revestem o trato respiratório e gastrointestinal e barreiras químicas representadas por uma variedade de enzimas e outras substâncias que têm ação microbicida direta ou inibem a aderência microbiana às superfícies orgânicas.

Qualquer invasor que ultrapasse essa primeira linha será combatido pelos componentes do sistema imunológico inato e, em seguida, pelo sistema imunológico específico.

A imunidade inata envolve elementos humorais, como as proteínas do sistema complemento, as proteínas de fase aguda e as citocinas, e elementos celulares, como monócitos, macrófagos, granulócitos, células dendríticas e linfócitos *natural killer* (NK). Esse sistema caracteriza-se por ter capacidade limitada de diferenciar um micróbio de outro e apresentar resposta semelhante para diferentes microorganismos.

Tabela 1 - Proporção de crianças com sepse nosocomial, com pelo menos uma hemocultura positiva, entre 6.215 recém-nascidos < 1.500 g, segundo o peso e a idade gestacional

Peso ao nascer (g)	Frequência (%) infecção	Idade gestacional (semanas)	Frequência (%) infecção
401-750	43	< 25	46
751-1.000	28	25-28	29
1.001-1.250	15	29-32	10
1.251-1.500	7	> 32	2

Os componentes da imunidade específica são os linfócitos e seus produtos, tais como os anticorpos. Em contraste com a imunidade inata, esse sistema responde de maneira específica a cada micróbio, possui memória e é capaz de responder mais vigorosamente a exposições repetidas do mesmo antígeno.

As imunidades inata e específica funcionam de forma cooperativa. A imunidade inata não só faz a primeira defesa contra os micróbios como também desempenha importante papel na indução da resposta específica, e esta, por sua vez, aumenta os mecanismos protetores da imunidade inata⁸.

Quanto aos recém-nascidos, outro componente da imunidade que atua enquanto a maturação de seu próprio sistema está se processando é a imunidade passivamente adquirida da mãe, por meio dos anticorpos de classe IgG e do leite humano.

Desenvolvimento do sistema imunológico

O sistema imunológico é composto por células derivadas das precursoras do sistema hematopoiético, cuja fonte principal é o saco vitelínico até a terceira semana embrionária, seguido pelo fígado fetal com 8 semanas e, finalmente, a medula óssea após 5 meses de gestação. Durante a vida fetal, essas células sofrem o efeito de microambientes especializados, tais como a medula óssea e o timo, respondendo aos sinais de estimulação, proliferando-se e diferenciando-se para dar origem ao sistema imunológico inato e específico. Esse é um processo complexo e detalhado. A Tabela 2 apresenta alguns dos momentos de diferenciação desse sistema na vida fetal. As funções dos diferentes componentes em recém-nascidos pré-termo serão abordadas a seguir.

Barreiras mecânicas e imunidade de mucosas

A pele do recém-nascido prematuro, especialmente a do prematuro extremo, é imatura e ineficaz como barreira epidérmica. No desenvolvimento fetal normal, o estrato córneo, responsável pela função de barreira epidérmica, somente se torna maduro por volta da 32ª-34ª semana de gestação⁹. Embora após o nascimento haja aceleração da maturação, até a segunda semana de vida pós-natal a pele imatura do recém-nascido de muito baixo peso é mais suscetível a rupturas, o que facilita a entrada de germes.

Há pouca informação a respeito da maturação do sistema imunológico fetal no que diz respeito ao compartimento de mucosas. O componente principal desse compartimento é a imunoglobulina secretória A (IgAs). Seidel et al.¹⁰ detectaram níveis semelhantes de IgAs em saliva de crianças nascidas a termo e pré-termo (idade gestacional média de 30 semanas) nos primeiros 9 meses de idade. Entretanto, outros autores relataram menores níveis de IgAs em recém-nascidos pré-termo ainda com a idade de 3 a 8 meses pós-natal¹¹.

Outra importante barreira à infecção é aquela do trato gastrointestinal, a qual está prejudicada no recém-nascido prematuro, uma vez que a acidez gástrica protetora é adversamente alterada pela alimentação praticamente contínua do recém-nascido, que eleva o pH, ou pelo uso ocasional de bloqueadores H2¹². Avaliações do componente imunológico gastrointestinal demonstram que somente pequenas quantidades do componente secretor são detectadas até 29 semanas fetais, sendo que imunócitos produzindo IgA, IgM ou IgG também são escassos até 1 semana pós-natal. Entretanto, após a segunda semana pós-natal de crianças nascidas ente 24 e 32 semanas gestacionais, observa-se uma expressão epitelial intensa de antígenos de

Tabela 2 - Etapas do desenvolvimento imunológico fetal

Idade fetal (semanas)	Imunidade inata	Imunidade humoral	Imunidade celular	Imunidade passiva
5-6	Macrófagos no fígado e sangue		Precursores T no fígado	
9-10	Início da síntese do complemento	Precursores B no fígado	Precursores T no timo	
12-14	Macrófagos nos linfonodos e CAA MHC classe II	Células pré-B com IgD, IgG e IgA	Cels T CD4+ e CD8+ no timo, fígado e baço	Início da passagem de IgG materna
16-17	Macrófagos maduros no fígado e neutrófilos em circulação	Grande número de células B no baço, sangue e medula óssea	Células T no sangue e tecidos linfóides / Recombinação de receptores	
20-30		Células B secretam anticorpos	Aumento gradual de linfócitos T secretando linfocinas	Aumento gradual do transporte de IgG

CAA = células apresentadoras de antígenos; MHC = antígeno de histocompatibilidade maior.

histocompatibilidade e aparecimento de IgAs, sugerindo que esse sistema de defesa seja modulado em resposta aos fatores ambientais após o nascimento¹³.

Imunidade inata

Sistema complemento

Este sistema é composto por aproximadamente 20 proteínas produzidas principalmente no fígado e muito abundantes no sangue e tecidos, requerendo ativação seqüencial. Há três vias de ativação do sistema complemento: a via alternativa, a dependente de lecitina e a clássica. As duas primeiras são ativadas de forma inespecífica pelo contato com certos componentes da superfície de microorganismos, independente da presença de anticorpos específicos. Conseqüentemente, é gerada uma série de substâncias (C3a, C3b, C5a, entre outras) que liberam mediadores inflamatórios, estimulam a quimiotaxia e fagocitose e, quando a ativação se completa, causam lise microbiana pelos componentes do complexo de ataque à membrana (C5b-C9)⁷. A via clássica é iniciada pela ligação de anticorpos, normalmente existentes na circulação, à primeira proteína C1 do sistema complemento⁸.

Os elementos do sistema complemento são detectados no feto precocemente durante a gestação, mas os níveis dessas proteínas permanecem baixos até o último trimestre. Não há passagem transplacentária dos elementos do sistema complemento, mas o feto e o recém-nascido podem sintetizá-los, e esta capacidade aumenta com a idade gestacional¹⁴. No final da gestação, há um rápido aumento de C3 até 60% a 80% dos valores do adulto, mas os componentes finais do sistema complemento podem atingir só 10% dos níveis maternos. Apesar dessa deficiência quantitativa, a capacidade funcional no recém-nascido a termo, medida pela atividade hemolítica total do complemento (CH50), aproxima-se dos valores do adulto. Os componentes da via alternativa do recém-nascido atingem 35% a 70% dos níveis dos adultos. Os prematuros têm menores níveis de complemento e atividade lítica ao nascer, sendo que os níveis de C3, C4 e CH50 aumentam com a idade gestacional¹⁵. Baixos níveis de componentes precoces no prematuro causam deficiência dos produtos de ativação que são críticos para a quimiotaxia e a opsonização.

Fagócitos

Neutrófilos, monócitos e macrófagos são capazes de fagocitar microorganismos e destruí-los intracelularmente pela ação de uma variedade de substâncias tóxicas, incluindo ânions superóxidos, radicais hidroxila, óxido nítrico, proteínas catiônicas, ácido hipocloroso e lisozima. Os neutrófilos e as células do sistema mononuclear-fagocitário originam-se na medula óssea a partir de uma célula progenitora de granulócitos e monócito-macrófago, a unidade formadora de colônia granulócito monócito (CFU-GM). Hormônios glicoprotéicos, chamados de fatores estimuladores de colônias (G-CSF/ GM-CSF), induzem proliferação, maturação e diferenciação em neutrófilos e monócitos¹⁶.

Os macrófagos e células dendríticas são as principais células apresentadoras de antígenos solúveis que induzem a proliferação de linfócitos T, por meio da secreção de citocinas que provêm sinais para ativação. Para tanto, é necessária a expressão de antígenos de histocompatibilidade maiores (MHC) de classes I e II na superfície da célula. Em torno da 12ª semana de gestação, a expressão dessas moléculas é evidente em vários tecidos fetais, incluindo-se macrófagos e células dendríticas, de maneira semelhante à de adultos¹⁷. Entretanto, há dados que indicam deficiências no processamento e apresentação de antígenos, assim como falha na regulação da expressão de MHC II na superfície celular, tornando essa função diminuída no recém-nascido¹⁸. Também quanto aos monócitos neonatais, deficiências como redução da produção de citocinas também têm sido observadas¹⁹.

Os neutrófilos (leucócitos polimorfonucleares) são células capazes de responder e migrar rapidamente e em grande número para o local de lesão e infecção. Devido ao fato de serem componentes fundamentais da imunidade inata, essas células têm sido extensivamente estudadas em recém-nascidos quanto aos componentes corpóreos e às funções de quimiotaxia, deformabilidade, aderência, fagocitose e lise bacteriana.

O *pool* de reserva de neutrófilos da medula óssea de recém-nascidos é menor que o de adultos e, diante de um quadro séptico, pode se exaurir rapidamente. Nos recém-nascidos com menos de 32 semanas de idade gestacional, essa reserva equivale a aproximadamente 20% do *pool* dos recém-nascidos a termo e adultos²⁰. Nesses prematuros extremos, a ocorrência de neutropenia durante o curso de uma infecção geralmente é devida à exaustão das reservas medulares²¹.

Os neutrófilos na circulação sangüínea permanecem inativados e circulam em alta velocidade⁸. A ativação dos neutrófilos se dá nos tecidos, nos sítios do processo infeccioso, mas, para chegarem até lá, precisam estabelecer contato com o endotélio, aderir, parar, deformar-se e passar entre as células endoteliais. O contato transitório dos neutrófilos com o endotélio, reconhecido em imagens dinâmicas de videomicroscopia como "rolagem celular", depende da associação e dissociação de receptores e seus ligantes nas células endoteliais e nos ápices de projeções vilosas dos neutrófilos. As principais moléculas envolvidas nestas interações são a selectina plaquetária (P-selectina), a selectina endotelial (E-selectina) e a selectina leucocitária (L-selectina)¹⁶. A P-selectina das plaquetas e células endoteliais é expressa de forma bastante tênue pelo endotélio fetal antes da 27ª semana de gestação, e sua expressão é praticamente normal no recém-nascido a termo e diminuída no recém-nascido pré-termo²². A L-selectina é expressa essencialmente nos leucócitos, havendo baixos níveis no cordão de recém-nascidos, principalmente em recém-nascidos pré-termo^{23,24}. Durante o primeiro mês de vida, a expressão de L-selectina é reduzida nas células de neonatos, quando comparadas com as células de adultos²⁵. A adesão firme dos neutrófilos ao endotélio é mediada pela beta2-integrinas. A adesina mais importante desse grupo é o receptor 3 do complemento (CR3 ou CD11b/CD18). O CR3

é expresso em baixas concentrações na superfície dos neutrófilos não ativados. O CR3 reconhece membros da superfamília das moléculas de adesão endotelial intercelular I (ICAM-1) e ICAM-2, às quais se ligam promovendo a adesão firme do neutrófilo ao endotélio. Os neutrófilos não ativados de neonatos têm expressão de CR3 similar a de neutrófilos de adultos²⁵. A estimulação e ativação por inflamação levam a um aumento dos complexos CR3 *in vivo* e *in vitro*, mas este aumento é significativamente menor para os neutrófilos neonatais^{25,26}. A concentração total de CR3 nos neutrófilos neonatais aumenta com a idade gestacional até 60% do valor do adulto²⁶.

Após aderir efetivamente ao endotélio vascular, os neutrófilos precisam deformar-se para passar através das junções entre as células endoteliais. A deformabilidade depende, em parte, da formação de filamentos de actina a partir da polimerização da G-actina monomérica. Os neutrófilos de recém-nascidos geram menos filamentos de actina após estimulação com fatores quimiotáticos do que os neutrófilos de adultos²⁷. Outro fator determinante da deformabilidade do neutrófilo é a sua membrana – a fluidez aumentada da membrana dos neutrófilos do neonato leva a uma menor deformabilidade desses²⁸.

Fora dos vasos, os neutrófilos movem-se de forma direcionada para o sítio de inflamação, guiados por moléculas quimiotáticas tais como o fragmento C5a do sistema complemento, interleucina-8, leucotrieno B₄, fator de ativação plaquetária, bem como fragmentos de proteínas bacterianas chamados de peptídeos formil-metionina (f-met)⁸.

No sítio de invasão microbiana, faz-se o contato entre o microorganismo e o fagócito através da ligação de opsoninas (imunoglobulina (Ig) G e C3b/iC3b), ligadas ao microorganismo com receptores específicos na superfície celular. A interação entre opsoninas e receptores, junto com a ativação dos elementos contráteis, resulta na formação de pseudópodos que engolfam o microorganismo, formando um vacúolo fagocítico que é internalizado e sofre a ação seqüencial das proteínas antimicrobianas e enzimas hidrolíticas liberadas pelos grânulos dos neutrófilos¹⁶. A proteína bactericida e indutora de permeabilidade (*bactericidal permeability increasing protein*, BPI) que neutraliza a endotoxina lipopolissacáride (LPS) e é citotóxica para bactérias gram-negativas tem uma concentração três a quatro vezes menor nos recém-nascidos a termo em relação à encontrada em adultos²⁹. A quantidade de BPI encontrada nos neutrófilos de recém-nascidos pré-termo é ainda menor que a dos recém-nascidos a termo³⁰.

Durante a fagocitose, há um aumento brusco no metabolismo celular de oxigênio (*burst* respiratório), com a produção de metabólitos do oxigênio, incluindo o ânion superóxido [O₂⁻], peróxido de hidrogênio [H₂O₂] e radical hidroxil [HO], que têm atividade bactericida. A interação de metabólitos do oxigênio com substratos excitáveis dentro da célula também leva a uma explosão de quimiluminescência. É controverso se o aumento da atividade respiratória do neutrófilo do recém-nascido é igual ao do adulto e se o do prematuro é menor do que o do recém-nascido a ter-

mo^{31,32}. Recentemente, Björkvist et al.³³ mostraram que os neutrófilos de recém-nascidos pré-termo têm uma capacidade menor de aumentar sua atividade respiratória após estimulação com estafilococo coagulase negativo do que os neutrófilos de recém-nascidos a termo.

Células NK

São linfócitos grandes e granulares que usualmente expressam o receptor para IgG (CD16) e o marcador CD56. Têm função de citotoxicidade, na qual podem lisar células infectadas diretamente ou aquelas sensibilizadas por anticorpos. Essas células atuam principalmente contra células tumorais e células infectadas por vírus. Entretanto, são também capazes de lisar bactérias, parasitas, fungos e algumas células normais na ausência de sensibilização prévia. Comparativamente com adultos, neonatos têm quantidades similares ou mesmo mais elevadas de células NK no sangue periférico. No entanto, há diferenças fenotípicas e de função, sendo que a atividade citotóxica é diminuída no recém-nascido³⁴. Um número limitado de estudos envolveram recém-nascidos prematuros e indicam que esses têm ainda menor atividade NK do que recém-nascidos a termo, assim como menor quantidade de células³⁵. Nessas crianças, após o nascimento, ocorre incremento na proporção de células NK e na habilidade lítica dessas células, o que pode refletir a melhora da produção de citocinas³⁵, em resposta ao estímulo do ambiente extra-uterino.

Imunidade específica

Linfócitos T

São células especializadas do sistema imunológico que, após receberem o estímulo das células apresentadoras de antígeno e serem ativadas, iniciam a sua resposta a novos antígenos por meio da produção ou da expressão, em sua membrana celular, de citocinas que amplificam e regulam os múltiplos aspectos da resposta imunológica⁷. Além das funções efetoras, essas citocinas participam de efeitos-chave para a proliferação de células NK, monócitos, linfócitos B e na proliferação dos próprios linfócitos T. Subdividem-se os linfócitos T em vários subtipos, de acordo com seus marcadores de superfície e a sua produção de citocinas⁸. As duas maiores subpopulações de linfócitos T importantes para a imunidade específica são os linfócitos CD4+, ou *helper*, e os linfócitos CD8+, ou citotóxicos. As células CD4+ têm a função de ativar macrófagos e de estimular os linfócitos do tipo B a produzirem anticorpos. A população de células CD8+, em conjunto com as células NK, medeia a maioria das atividades citotóxicas contra células infectadas com vírus ou células tumorais. Durante a fase inicial de uma infecção, as células infectadas são lisadas de maneira inespecífica pelas células NK, o que leva a certa contenção da infecção, mas a erradicação ocorre através da expansão clonal das células citolíticas (CD8+) antígeno-específicas⁸.

Os linfócitos T neonatais exibem deficiências, tais como diminuição da resposta proliferativa, menor produção de interleucina 2 (IL2), diminuição da atividade

citotóxica e produção alterada de citocinas¹⁸. Dessa maneira, as respostas do feto e do recém-nascido a antígenos específicos, que são dependentes das células T, incluindo a citotoxicidade mediada por células CD8⁺³⁶ e a produção de anticorpos dependente de linfócitos CD4⁺³⁷, são reduzidas ou retardadas, quando comparadas com as de outros indivíduos.

Quanto à imunidade mediada por células em prematuros extremos, há algumas particularidades que os diferem dos adultos e dos recém-nascidos a termo. As principais diferenças são a redução da proliferação *in vitro* à fito-hemaglutinina e a menor proporção de células expressando CD3 e CD8³⁸. Entretanto, comparativamente a adultos e recém-nascidos a termo, a resposta a alguns patógenos microbianos (*H. influenzae*, *S. epidermidis*) é maior no primeiro dia de vida, havendo redução desta nas 2 semanas após o nascimento³⁹.

Linfócitos B

A população de células B é dedicada a uma finalidade principal: a produção de diversos espectros de moléculas de imunoglobulinas que constituem o componente humoral da resposta imune específica. A partir de células precursoras, os plasmócitos são as células mais diferenciadas para a produção de anticorpos. No adulto, essas células são capazes de sintetizar milhares de moléculas por segundo. Essas células são ativadas pela interação com o linfócito T e o antígeno. Em resposta ao desafio antigênico, a produção de IgM é a resposta primária⁷.

Tanto o feto como o recém-nascido infectado são capazes de produzir anticorpos do tipo IgM em resposta a antígenos bacterianos, mas em níveis inferiores aos de adultos. Entretanto, a síntese de IgG e IgA é limitada¹⁴. Além disso, esses falham em responder a certos antígenos, principalmente polissacarídeos bacterianos, e têm capacidade limitada em desenvolver memória. Essa produção limitada de anticorpos pode ser devida tanto ao desenvolvimento das próprias células B quanto à ausência de sinais estimuladores¹⁴.

Imunidade passivamente adquirida

A passagem transplacentária da imunoglobulina materna para o feto é uma adaptação específica que ameniza, em parte, as deficiências na produção de anticorpos. A passagem de IgG é restrita a isotipos de IgG. A fração Fc da molécula de IgG tem sido indicada como a principal fração implicada no transporte placentário desta imunoglobulina. A presença de receptores para a região Fc de IgG tem sido demonstrada na placenta humana já nas primeiras 12 semanas de idade gestacional. O sincitiotrofoblasto e as células de Hofbauer são as principais células que possuem os receptores Fc⁴⁰. Todas as quatro subclasses de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) atravessam a placenta. O feto recebe os anticorpos contra antígenos para os quais a mãe foi exposta por meio de colonização, infecção ou vacinação. Se a mãe possuir pequenas concentrações de anticorpos ou se os anticorpos protetores não forem do isotipo IgG, como ocorre com anticorpos IgM direcionados contra patógenos

bacterianos gram-negativos, tais como *E. coli* e *Salmonella sp.*, o feto não os recebe¹⁴.

Estudos que avaliam o padrão de transferência de diferentes tipos de anticorpos IgG específicos demonstram que há peculiaridades no transporte destes anticorpos. A transferência placentária é mais eficiente para IgG1 e IgG3 e menos eficiente para IgG2⁴¹. Dessa maneira, há transferência facilitada de anticorpos contra proteínas virais, de subclasse IgG1 (poliovírus, sarampo, rubéola, caxumba) e antitoxinas (tetânica, diftérica, eritrogênica). Entretanto, os anticorpos contra bactérias capsuladas (*Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*), em que há predomínio de IgG2, são transferidos menos eficientemente, ou seja, somente 50% a 60% daqueles detectados na mãe⁴².

O transporte ativo da imunoglobulina G pela placenta inicia-se precocemente e aumenta proporcionalmente até o termo gestacional, tendo sido demonstrado que a idade gestacional influencia os níveis de IgG total do cordão umbilical, havendo uma correlação linear entre esses. Em torno de 32 semanas de idade gestacional, os níveis detectáveis no recém-nascido são de aproximadamente 400 mg/dl, podendo atingir valores superiores a 1.000 mg/dl no recém-nascido a termo, sendo às vezes superiores aos níveis maternos¹⁴. Recém-nascidos prematuros, principalmente os extremos, podem não receber níveis protetores de anticorpos, pois a maior parte desses anticorpos é transferida ao feto após 34 semanas de gestação⁴³. Assim como para recém-nascidos a termo, essa deficiência é ainda mais acentuada para anticorpos da subclasse IgG2.

A Tabela 3 resume as principais características dos componentes do sistema imunológico de recém-nascidos prematuros citadas anteriormente.

Outras das adaptações fundamentais para a defesa passiva do recém-nascido são o leite humano e a colonização por microbiota intestinal obtida da mãe. O leite humano contém numerosos componentes protetores. Além de proteger a criança passivamente, o leite humano estimula o sistema imunológico do recém-nascido por meio de anticorpos anti-idiotípicos e da captação de linfócitos, citocinas e de outros elementos⁴⁴.

Entre outros fatores de proteção do leite humano, a IgA, o isotipo predominante no leite humano, provê proteção contra todos os micróbios que a mãe tenha ou não no seu tubo digestivo, evitando que esses adiram às superfícies mucosas. A lactoferrina, o principal componente protéico do leite maduro, é relativamente resistente à digestão enzimática e possui efeitos microbicidas, imunomoestimulatórios e anti-inflamatórios, pela indução de menor síntese de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6, IL-8 e TNF⁴⁵. A fração oligossacarídica do leite contém análogos a vários receptores para micróbios no epitélio mucoso. Dessa maneira, a presença do leite humano durante a colonização neonatal e a subsequente expansão da microbiota intestinal é um fator fundamental, não somente para a prevenção de infecções, mas também para induzir a maturação do sistema imunológico.

Tabela 3 - Desempenho dos vários componentes do sistema imunológico nos recém-nascidos prematuros

Componente	Desempenho nos recém-nascidos prematuros	Referência(s)
Barreira mecânica	Maturação do estrato córneo por volta da 32 ^a -34 ^a semana de gestação	9
Mucosa intestinal	Pequenas quantidades de receptores HLA, componente secretor e imunócitos IgA, IgM e IgG - Aumento acentuado após 2 semanas pós-natais	13
Macrófagos e células dendríticas teciduais	Expressão de receptores e função semelhante ao do adulto desde 12 semanas gestacionais	17
Proteínas do sistema complemento	Concentração e atividade lítica ↓ no pré-termo, ↑ com a idade gestacional	14
Pool de reserva de neutrófilos	RN < 32 semanas têm 20% da reserva de neutrófilos de RN a termo	20
Aderência endotelial dos neutrófilos	Expressão de L - selectina ↓ nos RN Quando estimulados, os neutrófilos dos RNs produzem ↓ adesina CR3 do que os neutrófilos de adulto A concentração de CR3 nos neutrófilos aumenta com a idade gestacional	24,25 26 26, 27
Deformabilidade dos neutrófilos	Diminuída nos RN em geral, não só nos prematuros	27, 28
Substâncias antimicrobianas	A concentração de BPI em RN é 3-4 vezes menor que nos adultos, e nos prematuros é ainda menor	29, 30
Células <i>natural killer</i>	Número e função diminuídos	37
Linfócitos T <i>helper</i> (CD4+)	A função de estimular os linfócitos B a produzirem anticorpos está ↓ RN a termo e pré-termo	37
Linfócitos citotóxicos (CD8+)	Atividade citotóxica ↓ RN a termo e pré-termo	36
Imunidade passiva	A concentração da IgG é dependente da passagem transplacentária e ↑ com a idade gestacional	43

HLA = antígeno de histocompatibilidade; CR3 = receptor 3 do complemento; BPI = *bactericidal permeability increasing protein*; RN = recém-nascido.

co⁴⁴. Prematuros extremos, devido a diferentes fatores, são freqüentemente impedidos de receberem o leite de suas próprias mães ou mesmo de banco de leite humano, que também possui a maioria das propriedades imunológicas⁴⁶. Conseqüentemente, a colonização intestinal dessas crianças se faz com uma microbiota desequilibrada, constituída pelas bactérias do ambiente das unidades de terapia intensiva, muitas vezes com bactérias virulentas e submetidas à pressão de seleção de antibacterianos, o que facilita a invasão desses microorganismos.

Propostas para incrementar a imunidade de prematuros extremos e prevenir a infecção nosocomial

Como detalhado anteriormente, recém-nascidos prematuros possuem vários fatores que facilitam a invasão bacteriana e a ocorrência de sepse neonatal. As barreiras mecânicas imaturas, as funções restritas de neutrófilos, as baixas concentrações plasmáticas de anticorpos específicos, a atividade reduzida das proteínas do sistema complemento e a insuficiente cooperação entre linfócitos T e B predispoem essas crianças à invasão bacteriana.

O conhecimento de várias das características do desenvolvimento do sistema imunológico fetal e das deficiências dos mecanismos de defesa para proteção contra os patógenos neonatais abriu caminhos para intervenções potenciais com vistas a incrementar a defesa e prevenir ou tratar a infecção nosocomial.

Revisaremos as principais propostas que visam imunomodulação para a prevenção de infecção em recém-nascidos pré-termo extremos.

Emolientes cutâneos tópicos

A prevenção da ruptura da barreira cutânea e da penetração de bactérias pela pele por meio do uso de emolientes tópicos tem sido proposta. Entretanto, apesar desse uso nos primeiros 15 dias melhorar as condições cutâneas e prevenir perda de água por essa via, não há evidências de proteção contra a invasão bacteriana. Contrariamente, estudo que incluiu 1.191 recém-nascidos de peso ao nascer entre 501 e 1.000 g e idade gestacional ≤ 32 semanas, alocados para receber aplicação generalizada de emolientes duas vezes ao dia ou aplicação seletiva no local da lesão cutânea, ao invés de demonstrar efeito protetor contra a

infecção, detectou maior risco de sepse bacteriana hospitalar⁴⁷. Semelhantemente, recente metanálise dos estudos disponíveis na literatura também mostrou que a aplicação profilática de emoliente tópico em pré-termos extremos aumentou o risco de ocorrência de qualquer infecção nosocomial e, principalmente, de infecção causada por estafilococos coagulase-negativo⁴⁸. Conseqüentemente, tem sido proposto o uso de forma terapêutica, somente nos locais em que haja lesões cutâneas. Entretanto, ainda não há estudos que validem a eficácia desse uso.

Imunoglobulina de uso endovenoso

O uso de preparações de imunoglobulina para uso endovenoso (IgEV) objetiva fornecer IgG para que essa se ligue a receptores da superfície celular, promova a atividade opsonizante e a atividade citotóxica dependente de anticorpos, ative complemento e melhore a quimiotaxia de neutrófilos. A partir da constatação de que o nível sérico de imunoglobulinas é baixo em prematuros extremos, a administração de imunoglobulina endovenosa proveniente de um *pool* de doadores adultos pareceria lógica para prevenção da sepse hospitalar. Embora tenha sido demonstrado que esse uso seja seguro, a eficácia permanece questionável.

Os resultados de vários estudos para avaliar a eficácia da profilaxia de sepse em prematuros por meio da administração de imunoglobulina endovenosa foram discordantes, alguns sugerindo benefícios e outros não os demonstrando. Baker et al.⁴⁹, estudando 558 recém-nascidos com peso ao nascer variando entre 500 e 1.250 g, detectaram menor risco de infecção hospitalar e menor duração da hospitalização naqueles que receberam IgEV (500 mg/kg/dia) do que entre os que receberam placebo. Fanaroff et al.⁵⁰ conduziram estudo clínico controlado, do qual participaram 2.416 recém-nascidos < 1.500 g, que receberam infusões intravenosas de 700-900 mg/kg de IgEV ou placebo a cada 14 dias até atingirem o peso de 1.800 g, não tendo demonstrado redução da incidência de infecção nosocomial, mortalidade ou outros desfechos. Geralmente, atribui-se a discordância de achados à variabilidade nos títulos de imunoglobulinas específicas contra o microorganismo causador da sepse nosocomial.

Recentemente, com a finalidade de reunir dados relativos a maior número de crianças, Ohlsson et al.⁵¹ avaliaram, por meio do método de metanálise, dados de 19 estudos controlados com placebo ou com não intervenção, nos quais imunoglobulina endovenosa foi administrada profilaticamente durante 8 ou mais dias, a mais de 5.000 recém-nascidos < 2.500 g, tendo mostrado uma redução de 3% na incidência de sepse e, também, redução de 4% de ocorrência de um ou mais episódios de qualquer infecção grave. Esses resultados demonstraram que seria necessário tratar 33 e 25 crianças para prevenir, respectivamente, um caso de sepse e um caso de qualquer infecção grave. Entretanto, não foi demonstrada nenhuma redução na mortalidade, na ocorrência de enterocolite necrosante, displasia broncopulmonar e hemorragia intraventricular, ou na duração da permanência hospitalar.

Atualmente, também tem sido considerado o uso de formulações contendo anticorpos IgG hiperimunes contra patógenos específicos e/ou anticorpos IgM. Entretanto, os estudos clínicos ainda estão em andamento⁵². É importante ressaltar que ainda não há dados disponíveis para justificar a administração rotineira de imunoglobulina endovenosa para prevenir a sepse nosocomial. Esse uso pode ser justificado em unidades com alta incidência de infecção nosocomial e que se mantém elevada mesmo após reforço das medidas de controle de infecção. Entretanto, o uso profilático deve ser baseado em rigorosa avaliação de custos e benefícios clínicos.

Fatores estimuladores de colônias mielóides

São fatores de crescimento hematopoiéticos que promovem a proliferação, diferenciação, maturação, sobrevivência e ativação de neutrófilos e macrófagos. Seus níveis no sangue do cordão umbilical correlacionam-se com a idade gestacional²¹, e a produção por células mononucleares em fetos e recém-nascidos pré-termo é significativamente menor do que em recém-nascidos a termo⁵³. Pela capacidade potencial em melhorar a fagocitose de bactérias e fungos e considerando-se que a neutropenia e o prejuízo da função de neutrófilos são freqüentes, a administração desses fatores humanos recombinantes foi estudada para a profilaxia e tratamento da sepse neonatal. Dois foram os fatores avaliados em recém-nascidos: fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF) e fator estimulador de colônia de granulócito macrófago (GM-CSF).

Está bem demonstrado que ambos os fatores aumentam o número de neutrófilos circulantes, o *pool* de armazenamento de neutrófilos na medula óssea e a expressão dos receptores C3bi nos neutrófilos, na ausência de efeitos adversos a curto ou longo prazo¹⁶. Entretanto, a administração desses fatores não reduziu significativamente a incidência de sepse nosocomial em grande número de recém-nascidos prematuros extremos⁵⁴.

Carr et al.⁵⁵ realizaram metanálise de três estudos controlados, que visavam melhorar a imunidade e reduzir a incidência de sepse nosocomial e a mortalidade relacionada à infecção. No seu conjunto, estes estudos envolveram 359 neonatos com < 32 semanas de idade gestacional ou < 1.000 g, apresentando ou não neutropenia, e que receberam GM-CSF logo após o nascimento. Pela variabilidade dos estudos, não foi possível analisar se a administração de GM-CSF diminuiu a incidência de sepse nosocomial, mas a sua administração não causou nenhuma redução da mortalidade. Portanto, até o momento atual, não há dados suficientes para justificar a administração profilática rotineira do GM-CSF para a prevenção da sepse nosocomial.

Esses estimuladores têm o potencial de prover proteção contra infecção quando administrados a prematuros < 32 semanas e que estejam neutropênicos (< 1.700/mm³), ou que estejam sob risco de desenvolverem neutropenia no período pós-natal. Somente um estudo controlado foi realizado nesse grupo de crianças⁵⁶, tendo havido redução de incidência de infecção sistêmica de 53% para 31%; no

entanto, essa não atingiu significância estatística, possivelmente pelo pequeno número de crianças estudadas. Um efeito similar foi observado em outro estudo, não controlado, que administrou G-CSF em crianças com neutropenia⁵⁷. No final de 2004, completou-se o recrutamento de grande número de pacientes para um estudo que está sendo realizado no Reino Unido, com o objetivo de esclarecer se o uso profilático do GM-CSF é capaz de reduzir infecção sistêmica ou mortalidade nas crianças com alto risco de neutropenia pós-natal.

Comentários finais

Embora conheçamos as limitações imunológicas dos recém-nascidos prematuros, até o momento, as alternativas para intervenção são restritas, e estudos futuros deverão explorar combinações de diferentes modalidades de imunoprofilaxia, incluindo-se a vacinação materna⁵⁸ e a do recém-nascido. Adicionalmente, as medidas para alterar a virulência dos patógenos causadores da sepse nosocomial ainda são incipientes^{59,60}. Portanto, todo o esforço deve ser feito para que os recém-nascidos prematuros, principalmente os prematuros extremos, não sejam colonizados e invadidos por germes nosocomiais, pois, uma vez que a infecção ocorra, as conseqüências são potencialmente desastrosas. Para tanto, é necessário que se intervenha nos fatores extrínsecos ao prematuro extremo que, sabidamente, também são fortemente associados à ocorrência de infecções nosocomiais. As medidas necessárias, nas quais a higienização das mãos ocupa posição central⁶¹, foram resumidas na Tabela 4 e revisadas em outros artigos^{62,63}.

Tabela 4 – Práticas potencialmente eficazes para prevenir infecção nosocomial

Lavagem das mãos

- Atenção meticulosa à lavagem das mãos, com averiguação da prática de lavagem e relatórios de aderência ao procedimento

Nutrição

- Não alterar as soluções de parenteral após a sua preparação
- Iniciar alimentação enteral o mais rapidamente possível
- Reduzir a exposição a lípidos intravenosos e alimentação parenteral
- Promover o uso do leite humano, assegurando coleta e estocagem adequadas

Cuidados com a pele

- Iniciar protocolo de cuidado para a pele para todos os recém-nascidos < 1.000 g, com os objetivos de promover maturação da pele e evitar quebras dessa
- Reduzir testes de laboratório que necessitem de punção do calcanhar e venopunctura
- Desenvolver abordagem sistemática em relação à terapia endovenosa que reduza a freqüência e o número de punções na pele para a colocação de cateteres intravenosos

Cuidado respiratório

- Reduzir dias de intubação
- Evitar a interrupção do circuito cânula endotraqueal/ventilador

Acesso vascular

- Reduzir o uso de acessos vasculares centrais, e quando usá-los, minimizar a freqüência de entradas diárias e a duração do uso
- Inserir acesso vascular central quando se prevê a necessidade de terapia intravenosa por tempo prolongado
- Criar regras e procedimentos para a obtenção do acesso venoso e para os cuidados com o mesmo, com monitoração regular da aderência a essas políticas e procedimentos

Diagnóstico

- Estabelecer o volume mínimo de amostra de hemocultura (1 ml para cada garrafa de cultura aeróbica)
- De preferência, coletar duas amostras de 1 ml cada para hemocultura aeróbica
- Desenvolver método para distinguir contaminação de cultura verdadeiramente positiva

Postura dos membros da unidade de terapia intensiva

- Promover os cuidados de suporte do desenvolvimento, com ênfase à manipulação mínima
- Desenvolvimento e manutenção da cooperação e trabalho em equipe que apóia e encoraja todos os membros a sentirem-se responsáveis pelos prognósticos

Adaptado de Kilbride⁶³.

Referências

1. Ferrieri P. Neonatal susceptibility and immunity to major bacterial pathogens. *Rev Infect Dis.* 1990;12(Suppl 4):S394-400.
2. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkrantz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2002;110:285-91.
3. Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais. Uso antenatal de corticosteróide e evolução clínica de recém-nascidos pré-termo. *J Pediatr (Rio J).* 2004;80:277-84.
4. Celini MN. Epidemiologia da infecção bacteriana hospitalar na unidade de terapia intensiva neonatal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo [dissertação]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo, 2003.
5. Nagata E, Brito AS, Matsuo T. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit: incidence and risk factors. *Am J Infect Control.* 2002;30:26-31.
6. Baltimore RS. Neonatal nosocomial infections. *Semin Perinatol.* 1998;22:25-32.
7. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. General properties of immune response: cellular and molecular immunology. 3rd ed. Philadelphia: Abbas, AK; 1997. p. 4-33.
8. Sompayrac L. How the immune system works. 1st ed. Malden, MA: Blackwell Science, Inc.; 1999.
9. Cartledge P. The epidermal barrier. *Semin Neonatol.* 2000;5:273-80.
10. Seidel BM, Schulze B, Schubert S, Borte M. Oral mucosal immunocompetence in preterm infants in the first 9 months of life. *Eur J Pediatr.* 2000;159:789.
11. Kuitunen M, Savilahti E. Mucosal IgA, mucosal cow's milk antibodies, serum cow's milk antibodies and gastrointestinal permeability in infants. *Pediatr Allergy Immunol.* 1995;6:30-5.
12. Saiman L. Risk factors for hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit. *Semin Perinatol.* 2002;26:315-21.
13. Rognum TO, Thrane S, Stoltenberg L, Vege A, Brandtzaeg P. Development of intestinal mucosal immunity in fetal life and the first postnatal months. *Pediatr Res.* 1992;32:145-9.
14. Schelonka RL, Infante AJ. Neonatal immunology. *Semin Perinatol.* 1998;22:2-14.
15. Miyano A, Miyamichi T, Nakayama M, Kitajima H, Shimizu A. Differences among acute, subacute, and chronic chorioamnionitis based on levels of inflammation-associated proteins in cord blood. *Pediatr Dev Pathol.* 1998;1:513-21.
16. Ulich F, Speer CP. Neutrophil function in preterm and term infants. *Neo Rev.* 2004;10:e417-42.

17. Roncarolo MG. Immuno responses of cord blood cells. *Bone Marrow Transplant.* 1998;22(Suppl 1):S55.
18. Garcia AM, Fadel SA, Cao S, Sarzotti M. T cell immunity in neonates. *Immunol Res.* 2000;22:177-90.
19. Trivedi HN, HayGlass KT, Gangur V, Allardice JG, Embree JE, Plummer FA. Analysis of neonatal T cell and antigen presenting cell functions. *Hum Immunol.* 1997;57:69-79.
20. Carr R, Huizinga TW. Low soluble FcRIII receptor demonstrates reduced neutrophil reserves in preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2000;83:F160
21. Ohls RK, Li Y, Abdel-Mageed A, Buchanan G Jr, Mandell L, Christensen RD. Neutrophil pool sizes and granulocyte colony-stimulating factor production in human mid-trimester fetuses. *Pediatr Res.* 1995;37:806-11.
22. Lorant DE, Li W, Tabatabaei N, Garver MK, Albertine KH. P-selectin expression by endothelial cells is decreased in neonatal rats and human premature infants. *Blood.* 1999;94:600-9.
23. Kansas GS. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood.* 1996;88:3259-87.
24. Buhner C, Stibenz D, Graulich J, Gernhold U, Butcher EC, Dudenhausen JW, et al. Soluble L-selectin (sCD62L) umbilical cord plasma levels increase with gestational age. *Pediatr Res.* 1995;38:336-41.
25. Kim SK, Keeney SE, Alpard SK, Schmalstieg FC. Comparison of L-selectin and CD11b on neutrophils of adults and neonates during the first month of life. *Pediatr Res.* 2003;53:132-6.
26. Abughali N, Berger M, Tosi MF. Deficient total cell content of CR3 (CD11b) in neonatal neutrophils. *Blood.* 1994;83:1086-92.
27. Taniuchi S, Kinoshita Y, Yamamoto A, Fujiwara T, Hattori K, Hasui M, et al. Heterogeneity in F-actin polymerization of cord blood polymorphonuclear leukocytes stimulated by N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Pediatr Int.* 1999;41:37-41.
28. Wolach B, Ben Dor M, Chomsky O, Gavrieli R, Shinitzky M. Improved chemotactic ability of neonatal polymorphonuclear cells induced by mild membrane rigidification. *J Leukoc Biol.* 1992;51:324-8.
29. Levy O, Martin S, Eichenwald E, Ganz T, Valore E, Carroll SF, et al. Impaired innate immunity in the newborn: newborn neutrophils are deficient in bactericidal/permeability-increasing protein. *Pediatrics.* 1999;104:1327-33.
30. Nupponen I, Pesonen A, Andersson S, Makela A, Turunen R, Kautiainen H, et al. Neutrophil activation in preterm infants who have respiratory distress syndrome: extracellular release of bactericidal/permeability-increasing protein in newborn infants. *Pediatrics.* 2002;110:36-41.
31. Driscoll MS, Thomas VL, Ramamurthy RS, Casto DT. Longitudinal evaluation of polymorphonuclear leukocyte chemiluminescence in premature infants. *J Pediatr.* 1990;116:429-34.
32. Drossou V, Kanakoudi F, Tzimouli V, Sarafidis K, Taparkou A, Bougiouklis D, et al. Impact of prematurity, stress and sepsis on the neutrophil respiratory burst activity of neonates. *Biol Neonate.* 1997;72:201-9.
33. Björkqvist M, Jurstrand M, Bodin L, Fredlund H, Schollin J. Defective neutrophil oxidative burst in preterm newborns on exposure to coagulase-negative staphylococci. *Pediatr Res.* 2004;55:966-71.
34. Kohl S, Sigouroudinia M, Engleman EG. Adhesion defects of antibody-mediated target cell binding of neonatal natural killer cells. *Pediatr Res.* 1999;46:755-9.
35. McDonald T, Sneed J, Valenski WR, Dockter M, Cooke R, Herrod HG. Natural killer cell activity in very low birth weight infants. *Pediatr Res.* 1992;31:376-80.
36. Lee SM, Suen Y, Chang L, Bruner V, Qian J, Indes J, et al. Decreased interleukin-12 (IL-12) from activated cord versus adult peripheral blood mononuclear cells and upregulation of interferon-gamma, natural killer, and lymphokine-activated killer activity by IL-12 in cord blood mononuclear cells. *Blood.* 1996;88:945-54.
37. Splawski JB, Jelinek DF, Lipsky PE. Delineation of the functional capacity of human neonatal lymphocytes. *J Clin Invest.* 1991;87:545-53.
38. Herrod HG, Cooke RJ, Valenski WR, Herman J, Dockter ME. Evaluation of lymphocyte phenotype and phytohemagglutinin response in healthy very low birth weight infants. *Clin Immunol Immunopathol.* 1991;60:268-77.
39. Veber MB, Cunningham-Rundles S, Schulman M, Mandel F, Auld PA. Acute shift in immune response to microbial activators in very-low-birth-weight infants. *Clin Exp Immunol.* 1991;83:391-5.
40. Kameda T, Koyama M, Matsuzaki N, Taniguchi T, Saji F, Tanizawa O. Localization of three subtypes of Fc gamma receptors in human placenta by immunohistochemical analysis. *Placenta.* 1991;12:15-26.
41. Morell A, Sidiropoulos D, Herrmann U, Christensen KK, Christensen P, Prellner K, et al. IgG subclasses and antibodies to group B streptococci, pneumococci, and tetanus toxoid in preterm neonates after intravenous infusion of immunoglobulin to the mothers. *Pediatr Res.* 1986;20:933-6.
42. Nagao AT, Costa-Carvalho BT, Arslanian C, Sole D, Naspitz C, Carneiro-Sampaio MM. Placental transfer of IgG antibodies against *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide in Brazilian term and preterm newborns. *J Trop Pediatr.* 1999;45:171-3.
43. Landor M. Maternal-fetal transfer of immunoglobulins. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995;74:279-83.
44. Hanson LA, Silfverdal SA, Korotkova M, Erling V, Strombeck L, Olcen P, et al. Immune system modulation by human milk. *Adv Exp Med Biol.* 2002;503:99-106.
45. Eläss E, Masson M, Mazurier J, Legrand D. Lactoferrin inhibits the lipopolysaccharide-induced expression and proteoglycan-binding ability of interleukin-8 in human endothelial cells. *Infect Immun.* 2002;70:1860-6.
46. Lawrence RA. Milk banking: the influence of storage procedures and subsequent processing on immunologic components of human milk. *Adv Nutr Res.* 2001;10:389-404.
47. Edwards WH, Conner JM, Soll RF. The effect of prophylactic ointment therapy on nosocomial sepsis rates and skin integrity in infants with birth weights of 501 to 1000 g. *Pediatrics.* 2004;113:1195-203
48. Conner JM, Soll RF, Edwards WH. Topical ointment for preventing infection in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004(1):CD001150.
49. Baker CJ, Melish ME, Hall RT, Casto DT, Vasan U, Givner LB. Intravenous immune globulin for the prevention of nosocomial infection in low-birth-weight neonates. The Multicenter Group for the Study of Immune Globulin in Neonates. *N Engl J Med.* 1992;327:213-9.
50. Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, Wright EC, Poland RL, Bauer CB, et al. A controlled trial of intravenous immune globulin to reduce nosocomial infections in very-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med.* 1994;330:1107-13.
51. Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004(1):CD000361.
52. Suri M, Harrison L, van de Ven C, Cairo MS. Immunotherapy in the prophylaxis and treatment of neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr.* 2003;15:155-60.
53. Chirico G, Ciardelli L, Cecchi P, De Amici M, Gasparoni A, Rondini G. Serum concentration of granulocyte colony stimulating factor in term and preterm infants. *Eur J Pediatr.* 1997;156:269-71.
54. Banerjee MC, Speer CP. The current role of colony-stimulating factors in prevention and treatment of neonatal sepsis. *Semin Neonatol.* 2002;7:335-49.
55. Carr R, Modi N, Dore C. G-CSF and GM-CSF for treating or preventing neonatal infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(3):CD003066.
56. Carr R, Modi N, Dore CJ, El-Rifai R, Lindo D. A randomized, controlled trial of prophylactic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human newborns less than 32 weeks gestation. *Pediatrics.* 1999;103:796-802.
57. Kocherlakota P, La Gamma EF. Preliminary report: rhG-CSF may reduce the incidence of neonatal sepsis in prolonged preclampsia-associated neutropenia. *Pediatrics.* 1998;102:1107-11.
58. Munoz FM, Englund JA. A step ahead. Infant protection through maternal immunization. *Pediatr Clin North Am.* 2000;47:449-63.
59. Weisman LE, Schuman RF, Lukomska E, Stinson JR, Parks O, Fischer GW. Effectiveness and pharmacokinetics of an anti-lipoteichoic acid humanized chimeric monoclonal antibody. *Pediatr Res.* 2001;301A.
60. Weisman LE, Mandy GT, Garcia-Prats JA, Nesin M, Schneider JH, Johnson KE. Safety and pharmacokinetics of a human chimeric anti-staphylococcal monoclonal antibody for prevention of coagulase negative staphylococcal infection in very low birth weight infants: preliminary report. *Pediatr Res.* 2003;315A.
61. Boyce JM, Pittet D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002;23:S3-40.
62. Mussi-Pinhata MM, Nascimento SD. Neonatal nosocomial infections. *J Pediatr (Rio J).* 2001;77(Suppl 1):S81-96.
63. Kilbride HW. Evaluation and development of potentially better practices to prevent neonatal nosocomial bacteremia. *Pediatrics.* 2003;111:e504-18.

Correspondência:

Marisa Márcia Mussi-Pinhata
 Rua Adolfo Serra 1724, casa 29
 CEP 14020-605 - Ribeirão Preto, SP
 Tels.: (16) 623.6262/602.2479 - Fax: (16) 602.2700