

# Análise de IgA do colostro contra bactérias envolvidas em infecções neonatais

Analysis of colostrum IgA against bacteria involved in neonatal infections

Elizabeth Moreira Dias<sup>1</sup>, Denise Bertulucci Rocha Rodrigues<sup>1</sup>,  
Vinícius Rangel Geraldo-Martins<sup>1</sup>, Ruchele Dias Nogueira<sup>1</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Descrever e comparar a especificidade de anticorpos IgA de amostras de colostro contra extratos bacterianos de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*. **Métodos:** As amostras de colostro foram coletadas assepticamente nas primeiras 12 horas após o nascimento por cesariana. A especificidade de IgA contra extratos de bactérias foi analisada por Western blot. **Resultados:** Os achados mostraram proteínas de alto peso molecular frequentemente detectáveis nas amostras. *S. aureus* foi a bactéria mais encontrada nas amostras ( $p < 0,05$ ). Cerca de 93,8, 56,3, 62,5 e 60,4% das amostras apresentaram IgA reativa a *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* e *E. coli*, respectivamente. Aproximadamente 40% das amostras não apresentaram IgA reativa contra *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* e *E. coli*. **Conclusão:** A evidência clínica da importância da amamentação para proteção imunológica ao recém-nascido foi consistente com os achados imunológicos observados, uma vez que a maioria das amostras mostrou IgA reativa contra as espécies testadas. A aplicação e o desenvolvimento de imunoterapias durante a gestação, focada nos antígenos frequentemente detectados, poderiam ser importantes instrumentos para aumentar a presença de IgA no colostro.

**Descritores:** Enterobacteriaceae; *Staphylococcus aureus*; Colostro; Imunoglobulina A; Infecção

## ABSTRACT

**Objective:** To describe and compare the specificity of IgA antibodies against bacteria extract of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella enteritidis*. **Methods:** Colostrum samples were aseptically collected in the first 12 hours after C-section delivery. The specificity of IgA against bacteria extracts was analyzed by the Western blot. **Results:** The findings showed proteins of high molecular weight frequently detectable in

the samples. *S. aureus* was the most frequently found bacterium in the samples ( $p < 0.05$ ). Approximately 93.8, 56.3, 62.5 and 60.4% of samples presented IgA reactive to *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enteritidis*, and *E. coli*, respectively. Roughly 40% of samples showed no IgA reactive to *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* and *E. coli*. **Conclusion:** Clinical evidence of the importance of breastfeeding for the immune protection of neonates was consistent with the observed immunological findings, since most samples showed IgA reactive against the species tested. The application and development of immunotherapies during pregnancy, focused on frequently detected antigens, could be an important tool to enhance the presence of IgA in colostrum.

**Keywords:** Enterobacteriaceae; *Staphylococcus aureus*; Colostrum; Immunoglobulin A; Infection

## INTRODUÇÃO

Infecções bacterianas neonatais ainda são a principal causa de morbimortalidade no período neonatal. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, 6,3 milhões de crianças com menos de 5 anos morreram em 2013, e 45% dos óbitos ocorreram no período neonatal.<sup>(1)</sup> No Brasil, cerca de 60% da mortalidade infantil deve-se a infecções bacterianas.<sup>(2)</sup>

A maior suscetibilidade a infecções bacterianas neonatais é justificada pela imaturidade imunológica relativa de recém-nascidos,<sup>(3)</sup> consequência direta do ajuste imunológico no período de transição entre as vidas intra- e extrauterina.<sup>(4)</sup> A ontogenia do sistema imunológico começa no embrião e continua durante a vida fetal, mas apenas se completa alguns anos após o nas-

<sup>1</sup> Universidade de Uberaba, Uberaba, MG, Brasil.

Autor correspondente: Ruchele Dias Nogueira – Avenida Nene Sabino, 1.801 – Universitário – CEP: 38055-500 – Uberaba, MG, Brasil – Tel.: (34) 3319-8800 – E-mail: ruchele\_nogueira@yahoo.com.br

Data de submissão: 6/12/2016 – Data de aceite: 4/5/2017

Conflitos de interesse: não há.

DOI: 10.1590/S1679-45082017AO3958

cimento.<sup>(5)</sup> Porém, certas práticas hospitalares, maternas e obstétricas podem contribuir para a ocorrência de contaminação bacteriana, que resulta em infecções gastrointestinais e respiratórias,<sup>(6)</sup> sepse neonatal e envolvimento sistêmico.<sup>(2)</sup>

A sepse neonatal, terceira causa mais comum de morte precoce, é responsável por 500 mil mortes por ano.<sup>(7,8)</sup> Os patógenos isolados com mais frequência, envolvidos em infecções neonatais, são *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus*.<sup>(8)</sup>

Embora *E. coli* colonize o trato gastrointestinal no neonato dentro de algumas horas de vida e desenvolva uma relação mutualista com seu hospedeiro,<sup>(9)</sup> esta espécie é a mais frequentemente envolvida na sepse neonatal.<sup>(10,11)</sup> Alguns sorotipos de *E. coli*, como o enteropatogênico, entero-hemorrágico, enteroagregativo e enterotoxigênico, já foram descritos como principais causa de diarreia em crianças com menos de 1 ano de idade.<sup>(12)</sup> O sorotipo O6 da *E. coli* também já foi detectado em diversos casos de meningite<sup>(13)</sup> e sepse neonatais.<sup>(14)</sup> Outra relevante bactéria associada a infecções gastrointestinais neonatais é a *S. enteritidis*, que geralmente aparece após a primeira semana de vida e causa gastroenterite aguda e sérias complicações para o recém-nascido, como sepse e/ou meningite.<sup>(15)</sup>

*S. aureus* também está associada a inúmeras infecções durante o período neonatal, como sepse neonatal de início tardio,<sup>(8)</sup> impetigo,<sup>(16)</sup> artrite e osteomielite.<sup>(17)</sup> Antígenos de virulência da *S. aureus* estão predominantemente relacionados à superfície bacteriana, como polissacarídeos capsulares, ácido teicoico, peptidoglicanos, adesinas, proteína A e toxinas.<sup>(18)</sup> *K. pneumoniae* é um patógeno oportunista causador de pneumonia, bacteremia e infecções do trato urinário,<sup>(19)</sup> tendo já sido relatada como um agente comum em casos de sepse neonatal.<sup>(20)</sup> Também está associada a alta mortalidade, muitas vezes por meio de cepas multirresistentes a antibióticos associados à produção de betalactamase.<sup>(20)</sup>

Após o nascimento, com a interrupção da transferência de IgG via cordão umbilical, a mãe pode fornecer outra forma de proteção passiva ao recém-nascido por meio do aleitamento materno, que possui atributos protetores inquestionáveis associados à redução do risco de infecção neonatal,<sup>(3,21)</sup> já que contém diversos componentes imunes, como a IgA secretora (IgAS).<sup>(22)</sup> A presença de IgAS representa a primeira linha de defesa das membranas mucosas, oferecendo proteção contra infecções e revestimento às superfícies mucosas, prevenindo a adesão e a invasão de microrganismos nos tecidos.<sup>(3,21,23)</sup>

Embora a amamentação exclusiva seja recomendada e praticada, alguns recém nascidos em amamentação podem desenvolver infecções bacterianas durante o período neonatal. Há evidências de que as crianças, apesar de serem amamentadas, podem desenvolver diarreia por *Campylobacter*, devido à falta de anticorpos específicos contra antígenos de virulência para esta bactéria no colostro.<sup>(23)</sup> Deste modo, é necessário determinar, em amostras de colostro, a presença de IgA específica contra extratos de bactérias geralmente envolvidas em infecções neonatais, como *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* e *E. coli*.

## OBJETIVO

Descrever e comparar a especificidade de anticorpos IgA de amostras de colostro contra extratos bacterianos de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*.

## MÉTODOS

Foram incluídas 48 mulheres mediante consentimento. O Comitê de Ética aprovou o estudo CAAE: 02166713.4.0000.5145. Apenas mães saudáveis, 12 horas após o parto, foram incluídas na coleta. Informações sobre dados médicos e socioeconômicos das gestantes e do período gestacional foram obtidas por entrevistas. As amostras de colostro foram coletadas por expressão manual diretamente em tubos de polipropileno estéreis do tipo Falcon. As amostras foram obtidas e transportadas em gelo para o laboratório, centrifugadas a 1.300g por 7 minutos para remoção dos componentes lipídicos e mantidas a -80°C até o momento do uso.

### **Western blotting da IgA do colostro contra bactérias**

Extratos de *S. aureus* (ATCC 25923), *K. pneumoniae* (ATCC 13883), *S. enteritidis* (ATCC 13076) e *E. coli* (ATCC 11303) foram obtidos de culturas recentes, conforme descrito.<sup>(20)</sup> Foram separados por SDS-page 6% 17µg de extratos e transferidos para membranas de nitrocelulose. As membranas foram incubadas com as amostras de colostro (1:1.000). Após a lavagem, receberam uma solução de IgA anti-humana de cabra conjugada a HRP (Sigma), revelada pelo sistema ECL (Amersham Biosciences Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido) e exposta em biofilme por 5 minutos.

Os filmes de raio X revelados foram escaneados em um densitômetro (Bio-Rad GS-700 Imaging Densitometer), e as imagens foram avaliadas com o

software ImageQuant (Amersham Biosciences) para analisar padrões de reconhecimento de antígenos, incluindo o número e a intensidade das bandas reativas. Os sinais foram convertidos em contagens absolutas por comparação com os padrões na mesma membrana. Sinais não detectados foram registrados como zero. Um valor do filme em branco foi subtraído do valor da banda reativa.

Algumas membranas foram incubadas com tampão de bloqueio sem amostras para obtenção do controle negativo. Como controle positivo, as membranas foram incubadas com amostras de saliva, cujos padrões de reação com extratos de antígeno tinham sido previamente medidos. As bandas reativas representam a presença de IgA específica para proteínas separadas pela SDS *page* de cada extrato de bactéria.

### Análise estatística

O número médio de bandas de IgA e valores de densitometria da Ags reativa foram determinados e comparados entre as bactérias por meio de Análise de Variância (ANOVA). As frequências de IgA reativa positiva para antígenos foram avaliadas pelo teste  $\chi^2$ . As correlações entre anticorpos IgA e a específica para antígenos foram testadas pela análise de Pearson. Valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

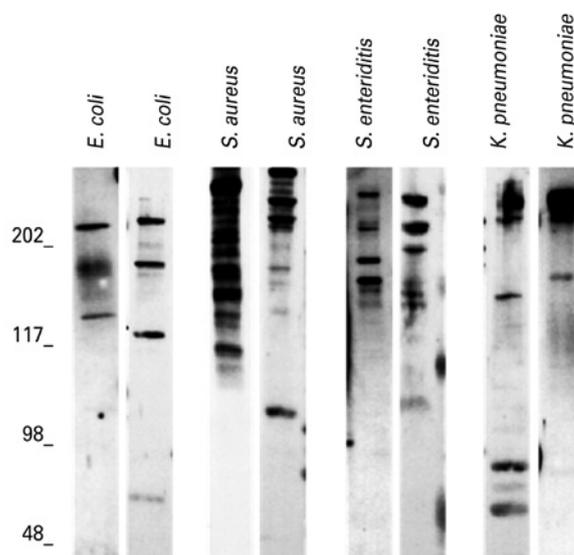
## RESULTADOS

As mães estavam saudáveis e não houve complicações durante e nem após o parto. A média de idade das pacientes era  $25,2 \pm 3,3$  anos. Não houve diferenças entre perfis raciais ( $p > 0,05$ ). Todos os bebês nasceram a termo ( $> 37$  semanas de gestação). Não foram achadas associações entre níveis de imunoglobulina e dados sobre etnia, idade da mãe, tipo de parto e caráter socioeconômico (Pearson,  $p > 0,05$ ). Também não foram achadas diferenças estatisticamente significativas entre níveis de imunoglobulina e tipo de parto: cesariana ou normal ( $p > 0,05$ ).

### Especificidade da resposta da IgA contra extratos bacterianos

Exemplos de imunoenaios de amostras com resposta positiva da IgA contra os antígenos bacterianos estão representados na figura 1. As frequências de amostras com respostas positivas (com pelo menos uma banda detectável) e negativas às quatro cepas estão demonstradas na tabela 1. A maioria das amostras mostrou IgA reativa contra *S. aureus*, seguida de *S. enteritidis*, *E. coli*

e *K. pneumoniae* (Tabela 1). O número de amostras com respostas positivas a *S. aureus* mostrou-se estatisticamente mais alto do que a outras bactérias (Tabela 1;  $p < 0,05$ ;  $q > 15,00$ ).



**Figura 1.** Padrões de IgA reativa contra antígenos de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* em amostras de colostro. Identidades dos extratos de antígeno estão acima de cada coluna. Tamanhos moleculares padrão (kDa) estão indicados à esquerda dos *imunoblots*

**Tabela 1.** Intensidade e frequência de IgA reativa a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* e antígenos detectados nas amostras de colostro

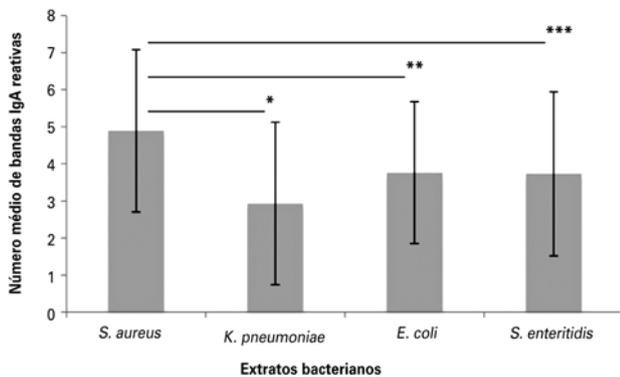
Extratos bacterianos e peso molecular (kDa)	Número de amostras com respostas		Média da intensidade total da reatividade da IgA do colostro $\pm$ DP
	Positiva n (%)	Negativa n (%)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	45 (93,8) <sup>††</sup>	3 (6,2) <sup>††</sup>	410,7 $\pm$ 186,3 <sup>¶¶</sup>
230	26 (57,8)		48,5 $\pm$ 41,9
221	18 (40,0)		33,6 $\pm$ 41,6
208	25 (55,6)		46,7 $\pm$ 42,2
185	17 (37,8)		31,7 $\pm$ 41,2
<i>Salmonella enteritidis</i>	30 (62,5) <sup>†</sup>	18 (37,5) <sup>†</sup>	217,8 $\pm$ 186,3 <sup>¶¶</sup>
244	16 (53,4)		31,6 $\pm$ 30,3
220	16 (53,4)		30,2 $\pm$ 29,7
176	14 (46,7)		27,0 $\pm$ 29,4
144	15 (50,0)		28,4 $\pm$ 29,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27 (56,3) <sup>†</sup>	21 (43,7) <sup>†</sup>	133,2 $\pm$ 101,9 <sup>¶¶</sup>
244	10 (37,0)		16,7 $\pm$ 22,2
229	7 (25,9)		12,0 $\pm$ 20,7
203	7 (25,9)		10,9 $\pm$ 19,6
194	7 (25,9)		12,5 $\pm$ 21,9
73	8 (29,6)		13,9 $\pm$ 22,4
46	8 (29,6)		13,3 $\pm$ 20,9
<i>Escherichia coli</i>	29 (60,4) <sup>*</sup>	19 (39,6) <sup>*</sup>	251,8 $\pm$ 129,9 <sup>¶¶</sup>
238	12 (41,4)		27,7 $\pm$ 33,6
216	15 (51,7)		34,6 $\pm$ 34,0
202	15 (51,7)		32,7 $\pm$ 23,8
162	13 (44,8)		30,0 $\pm$ 33,9

<sup>\*</sup> $\chi^2$ :  $p = 0,001$ ,  $q = 15,10$ ; <sup>†</sup> $\chi^2$ :  $p = 0,001$ ,  $q = 18,00$ ; <sup>††</sup> $\chi^2$ :  $p = 0,001$ ,  $q = 17,10$ ; <sup>¶</sup>ANOVA:  $p < 0,001$ ; <sup>¶¶</sup>ANOVA:  $p < 0,001$ ; <sup>¶¶¶</sup>ANOVA:  $p < 0,05$ ; <sup>¶¶¶¶</sup>ANOVA:  $p < 0,05$ .

DP: desvio padrão.

## Complexidade da resposta da IgA contra antígenos bacterianos

O número de bandas de IgA reativas a *S. aureus* variou entre 2 e 11 (média:  $4,89 \pm 2,19$ ); a *K. pneumoniae*, entre 1 e 11 (média  $2,93 \pm 2,19$ ); a *S. enteritidis*, entre 1 e 11 (média  $3,73 \pm 2,21$ ); e contra *E. coli*, entre 1 e 8 (média:  $3,76 \pm 1,911$ ). O número médio das bandas reativas a antígenos microbianos de *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. enteritidis* está representado na figura 2. O número médio de bandas reativas a *S. aureus* mostrou-se elevado, e foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em comparação a outras bactérias (Figura 2;  $p < 0,05$ ). Não houve diferenças significativas no número médio de bandas entre *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* e *E. coli* ( $p > 0,05$ ).



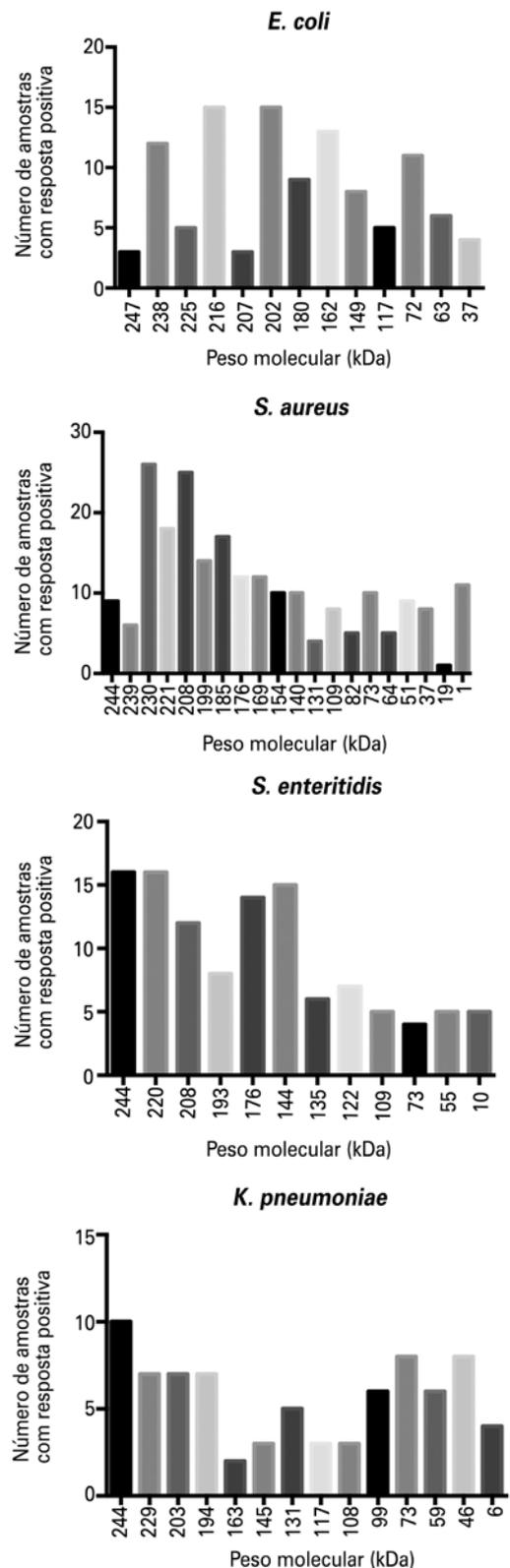
\* $p=0,02$ ; \*\* $p=0,02$ ; \*\*\* $p=0,04$ .

**Figura 2.** Número médio de bandas reativas de IgA com antígenos bacterianos de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella enteritidis* no colostro

## IgA específica contra bandas de extratos bacterianos separados por SDS-PAGE

As bandas de IgA reconhecidas e detectadas nos extratos bacterianos foram analisadas, e seu peso molecular (kDa) foi calculado pela equação obtida pela análise das bandas padrão de peso molecular. O número de amostras com IgA positiva para antígenos e seu peso molecular respectivo com *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* e *E. coli* estão representados na figura 3. Foi observada grande variação nas bandas reconhecidas pela IgA para cada extrato bacteriano, e a maioria delas mostrou grande peso molecular, variando entre 247 e 109kDa. Cerca de 59 bandas de diferentes pesos moleculares foram detectadas. Uma banda de peso molecular de 244kDa mostrou-se comum em amostras de *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *S. enteritidis*, mas não houve correlação entre elas ( $p > 0,05$ ;  $r < 0,28$ ).

As frequências de amostras com resposta positiva a antígenos mais detectadas estão representadas na ta-



**Figura 3.** Número de amostras com IgA reativa para antígenos bacterianos específicos e seu peso molecular (kDa)

bela 1. A resposta da IgA contra *S. aureus* apresentou a maior diversidade; mais de 20 tipos de bandas diferentes foram detectadas ( $p < 0,05$ ). A reatividade da

IgA contra *S. aureus* demonstrou prevalência de bandas com grande peso molecular ( $p < 0,05$ ; Figura 3). Mais de 55% das amostras com resposta positiva a *S. aureus* mostrou IgA reativa a 230kDa e 208kDa. Entre amostras com IgA positiva para *S. enteritidis* ( $n=30$ ), 12 bandas diferentes foram encontradas. Bandas de 244 e 220kDa foram reconhecidas em 53,4% das amostras e estatisticamente mais frequentemente detectadas do que as outras (Tabela 1;  $p < 0,05$ ).

A análise da IgA contra *K. pneumoniae* revelou 14 bandas distintas (Figura 3 e Tabela 1). A frequência da resposta positiva contra as bandas mais detectadas (Tabela 1) não diferiu ( $p > 0,05$ ). Os *immunoblots* de IgA contra *E. coli* apresentaram 13 bandas diferentes (Figura 3 e Tabela 1), mas não houve diferenças na frequência da resposta de IgA entre estas bandas ( $p > 0,05$ ).

Houve variações nas intensidades das reações de anticorpos de IgA com as bandas reconhecidas entre as crianças dos dois grupos. A tabela 1 mostra a soma das intensidades das reações de IgA com as bandas detectadas para cada espécie (intensidades totais). Em geral, a intensidade da resposta de IgA foi mais alta para *S. aureus* do que para outras bactérias ( $p < 0,05$ ). Além disto, a intensidade total da resposta da IgA para *E. coli* estava diminuída em relação à de *K. pneumoniae* ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A maioria das amostras de colostro apresentava IgA reativa a antígenos bacterianos, corroborando diversos estudos que enfatizam a importância do leite materno, que protege contra infecções por *Haemophilus influenzae* e *E. coli*,<sup>(21)</sup> e infecções entéricas causadas por *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter*, *Shigella* spp e *Giardia lamblia*.<sup>(24-26)</sup> Deste modo, o aleitamento materno pode proteger neonatos contra a invasão oral de diversos microrganismos.<sup>(21)</sup>

A maioria das amostras (94%) apresentava anticorpos IgA reativos contra *S. aureus* acompanhados de respostas intensas e complexas, já que o número de bandas reativas mostrou-se maior do que para outras bactérias. Esta alta frequência de IgA reativa provavelmente ocorreu porque esta bactéria é parte da microbiota humana normal em diversas regiões do corpo humano, o que não exclui a possibilidade deste microrganismo causar doenças sob imunossupressão, ou quando barreiras epiteliais são violadas, o que pode ser limitado à superfície mucosa ou espalhado pelo corpo.<sup>(9)</sup>

Apesar de a maioria das amostras apresentar IgA contra estas bactérias, cerca de 40% não apresentaram IgA reativa para *K. pneumoniae* ou *E. coli*, sugerindo que alguns recém-nascidos podem desenvolver infecções a partir destes microrganismos, mesmo sendo amamen-

tados. Uma das razões sugeridas para explicar crianças amamentadas com diarreia por *Campylobacter* é a falta de anticorpos específicos contra antígenos de virulência comuns de *Campylobacter* em amostras de colostro.<sup>(23)</sup> Eis então a importância não apenas de estudarmos a presença de IgA contra bactérias, mas também de avaliarmos e identificarmos os antígenos imunodominantes destas espécies na resposta imune natural.

As razões para a maior ou menor detecção de anticorpos nas amostras podem estar associadas à estimulação antigênica. É então necessário implementar uma estimulação estratégica para aumentar a proteção imune de recém-nascidos em seu período neonatal contra tais microrganismos e elevar os antígenos imunogênicos, o que ocorre com a infecção meningocócica. A imunização de mulheres no período pré-natal, com uma dose única de vacina meningocócica, resulta em aumento de níveis de IgG específica no soro do recém-nascido por 2 a 3 meses após o nascimento e em aumento de níveis de IgA específica para o microrganismo no leite por até 6 meses.<sup>(23)</sup>

Estes resultados mostram grande diversidade das espécies testadas de antígenos, com predominância de proteínas com alto peso molecular. As bandas mais comuns podem estar relacionadas à ação patogênica e/ou estimulação antigênica destas bactérias, como *S. aureus* de 230 e 289kDa, e as quatro bandas mais prevalente de *S. enteritidis* e *E. coli* são mostradas na tabela 1. A *K. pneumoniae* mostrou grande variabilidade na resposta da IgA, mas não apresentou padrão específico de resposta. A literatura oferece algumas informações sobre diversos antígenos destas bactérias envolvidos em suas capacidades patogênicas, mas sabe-se pouco sobre antígenos de alto peso molecular, que apareceram expressivamente nas amostras deste estudo.

Um antígeno de 94kDa chamado “intimina” e outros antígenos reconhecidos pela IgA de 70, 80 e 110kDa estavam associados no processo de lesão *attaching and effacing* (A/E) pelo *E. coli* enteropatogênico no leite humano.<sup>(6)</sup> Além disto, a Rck é uma proteína da membrana externa de 17kDa, expressa em *E. coli* e *S. enteritidis*, inibidora de vias complementares, que assim impede a opsonização por estas vias.<sup>(27)</sup> Nenhuma amostra apresentou IgA reativa para intimina (94kDa) e banda 17kDa, mas cerca de 38 e 17% das amostras responderam a uma banda de 72 e 117kDa, respectivamente, provavelmente da mesma forma que previamente reportado.<sup>(6)</sup> Antígenos de *K. pneumoniae* de 35 e 36kDa induzem anticorpos na opsonização<sup>(28)</sup> e foram reconhecidos por 29% das amostras do presente estudo.

O antígeno de 106kDa (fibronectina tipo A) é uma das mais importantes moléculas envolvidas na adesão em estágios precoces da infecção por *S. aureus*.<sup>(29)</sup> Além destas moléculas, constituintes proteicos da membrana da *S. aureus* de 30 e 36kDa podem cumprir um importante papel em infecções causadas por esta bactéria.<sup>(30)</sup> Estes antígenos foram detectados em 17% das amostras com respostas positivas.

## CONCLUSÃO

A maioria das amostras de colostro pode proteger os recém-nascidos de infecções bacterianas neonatais. É importante entender como estes anticorpos proporcionados pelo aleitamento podem ajudar o sistema imunológico da mucosa contra a colonização e o desafio apresentado por tais espécies, para desenvolvermos estratégias de prevenção e evitarmos estas infecções. A resposta natural aos extratos bacterianos testados mostra um caminho promissor para o desenvolvimento de vacinas contendo antígenos que poderiam ser aplicadas durante a gravidez, aumentando, assim, os níveis de IgA específica no colostro.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo teve o apoio do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), processo 472928/2007-4.

## REFERÊNCIAS

- World Health Organization (WHO). Global Health Observatory (GHO) data. Under-five mortality [Internet]. Geneva: WHO; 2017 [cited 2017 Jan 9]. Available from: [http://www.who.int/gho/child\\_health/mortality/mortality\\_under\\_five\\_text/en/](http://www.who.int/gho/child_health/mortality/mortality_under_five_text/en/)
- Furuichi M, Miyairi I. Risk factors for persistent bacteremia in infants with catheter-related bloodstream infection due to coagulase-negative Staphylococcus in the neonatal intensive care unit. *J Infect Chemother*. 2016;22(12):785-9.
- Petrechen LN, Zago FH, Sesso ML, Bertoldo BB, Silva CB, Azevedo KP, et al. Levels and complexity of IgA antibody against oral bacteria in samples of human colostrum. *Immunobiology*. 2015;220(1):142-6.
- Mussi-Pinhata MM, Nascimento SD. [Neonatal nosocomial infections]. *J Pediatr (Rio J)*. 2001;77(Suppl 1):S81-96. Portuguese.
- Ndam NT, Denoed-Ndam L, Doritchamou J, Viwami F, Salanti A, Nielsen MA, et al. Protective antibodies against placental malaria and poor outcomes during pregnancy, Benin. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(5):813-23.
- Gavilanes-Parra S, Mendoza-Hernández G, Chávez-Berrocá ME, Girón JA, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández A. Identification of secretory immunoglobulin a antibody targets from human milk in cultured cells infected with enteropathogenic escherichia coli (EPEC). *Microb Pathog*. 2013;64:48-56.
- Berezin EN, Solórzano F; Latin America Working Group on Bacterial Resistance. Gram-negative infections in pediatric and neonatal intensive care units of Latin America. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(8):942-53. Review.
- Downie L, Armiento R, Subhi R, Kelly J, Clifford V, Duke T. Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics--systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2013;98(2):146-54. Review.
- Gomes TA, Elias WP, Scaletsky IC, Guth BE, Rodrigues JF, Piazza RM, et al. Diarrheagenic Escherichia coli. *Braz J Microbiol*. 2016;47 Suppl 1:3-30. Review.
- Couto RC, Carvalho EA, Pedrosa TM, Pedroso ER, Neto MC, Biscione FM. A 10-year prospective surveillance of nosocomial infections in neonatal intensive care units. *Am J Infect Control*. 2007;35(3):183-9.
- Zaidi-Jacobson M, Ponce de León-Rosales S, Vázquez-Narvaez G, Chable-Mendoza C. [Prospective study of nosocomial infections at a pediatrics unit]. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 1991;48(8):538-43. Spanish.
- Dias RC, Dos Santos BC, Dos Santos LF, Vieira MA, Yamatogi RS, Mondelli AL, et al. Diarrheagenic Escherichia coli pathotypes investigation revealed atypical enteropathogenic E. coli as putative emerging diarrheal agents in children living in Botucatu, São Paulo State, Brazil. *APMIS*. 2016;124(4):299-308.
- McCracken GH Jr, Sarff LD, Glode MP, Mize SG, Schiffer MS, Robbins JB, et al. Relation between Escherichia coli K1 capsular polysaccharide antigen and clinical outcome in neonatal meningitis. *Lancet*. 1974;2(7875):246-50.
- Freij BJ, McCracken GH. Acute Infections. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG, editors. *Neonatology pathophysiology and management of the newborn*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Company; 1999. p.1082-116.
- Ferreira E, João A, Ferraz L. Gastroenterite por salmonella em recém-nascido. *Rev Nascer Crescer*. 2007;16(3):128-9.
- Jursa-Kulesza J, Kordek A, Kopron K, Wojciuk B, Giedrys-Kalemba S. Molecular studies of an impetigo bullosa epidemic in full-term infants. *Neonatology*. 2009;96(1):61-8.
- Montgomery CO, Siegel E, Blasier RD, Suva LJ. Concurrent septic arthritis and osteomyelitis in children. *J Pediatr Orthop*. 2013;33(4):464-7.
- Holtfreter S, Kolata J, Bröker BM. Towards the immune proteome of Staphylococcus aureus - The anti-S. aureus antibody response. *Int J Med Microbiol*. 2010;300(2-3):176-92. Review.
- Escobar AM, Rocha SS, Sztajnbock S, Eisencraft P, Grisi JF. [Septicaemia caused by Klebsiella pneumoniae - a review of 28 cases]. *J Pediatr (Rio J)*. 1996;72(4):230-4. Portuguese.
- Vijayakanthi N, Bahl D, Kaur N, Maria A, Dubey NK. Frequency and characteristics of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms in neonates: a prospective cohort study. *Biomed Res Int*. 2013;2013:756209.
- Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*. 2015;91(11):629-35. Review.
- Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J Nutr*. 2011;141(6):1181-7.
- Hurley WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*. 2011;3(4):442-74. Review.
- Hayani KC, Guerrero ML, Morrow AL, Gomez HF, Winsor DK, Ruiz-Palacios GM, et al. Concentration of milk secretory immunoglobulin a against shigella virulence plasmid-associated antigens as a predictor of symptom status in shigella-infected breast-fed infants. *J Pediatr*. 1992;121(6):852-6.
- Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Jiang X, Newburg DS. Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea. *J Nutr*. 2005;135(5):1304-7.
- Walterspiel JN, Morrow AL, Guerrero ML, Ruiz-Palacios GM, Pickering LK. Secretory anti-Giardia lamblia antibodies in human milk: protective effect against diarrhea. *Pediatrics*. 1994;93(1):28-31.
- Ho DK, Tissari J, Järvinen HM, Blom AM, Meri S, Jarva H. Functional recruitment of human complement inhibitor C4B-binding protein to outer membrane protein Rck of salmonella. *PLoS One*. 2011;6(11):e27546.
- Alcántar-Curiel MD, García-Latorre E, Santos JI. Klebsiella pneumoniae 35 e 36 kDa porins are common antigen in different serotypes and induce opsonizing antibodies. *Ach Med Res*. 2000;31(1):28-36.
- Zuo QF, Cai CZ, Ding HL, Wu Y, Yang LY, Feng Q, et al. Identification of the immunodominant regions of Staphylococcus aureus fibronectin-binding protein A. *PLoS One*. 2014;9(4):e95338. eCollection 2014.
- Akashi A, Ono S, Kuwano K, Arai S. Proteins of 30 and 36 kilodaltons, membrane constituents of the Staphylococcus aureus L form, induce production of tumor necrosis factor alpha and activate the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat. *Infect Immun*. 1996;64(8):3267-72.