

Université de Sherbrooke

**Effets d'une pression positive continue nasale sur la sécurité, l'efficacité et la physiologie de l'alimentation orale chez l'agneau nouveau-né**

Par  
Anne Bernier  
Département de physiologie et biophysique

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.) en physiologie

Sherbrooke, Québec, Canada  
Juillet 2012

Membres du jury:

Dr Jean-Paul Praud  
Dre Céline Catelin  
Dr Alain Frigon  
Dr Arnaud Gagneur



Library and Archives  
Canada

Published Heritage  
Branch

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque et  
Archives Canada

Direction du  
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*ISBN: 978-0-494-93317-6*

*Our file Notre référence*

*ISBN: 978-0-494-93317-6*

#### NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

#### AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

---

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

Canada

# **Effets d'une pression positive continue sur la sécurité, l'efficacité et la physiologie de l'alimentation orale chez l'agneau nouveau-né**

Par Anne Bernier

Département de physiologie et biophysique

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

## **RÉSUMÉ**

**Introduction:** En raison de leur immaturité, les nouveau-nés prématurés se heurtent à plusieurs difficultés alimentaires au cours de leur développement. Pour remédier à ces difficultés, les équipes de néonatalogie sont en constante recherche de stratégies d'optimisation de l'alimentation. Les connaissances actuelles suggèrent que l'autonomie alimentaire chez le prématuré est grandement favorisée par une initiation précoce à l'alimentation orale, à un âge où une aide respiratoire par pression positive continue (PPC) est souvent requise pour le traitement de pathologies respiratoires. À ce jour, nombre de néonatalogistes refusent d'alimenter oralement un nouveau-né sous PPC, craignant notamment l'aspiration trachéale. Puisqu'une telle crainte limite l'application de cette stratégie d'optimisation de l'alimentation, l'objectif de la présente étude était d'évaluer pour la première fois l'effet d'une PPC nasale sur la sécurité, l'efficacité et la physiologie de l'alimentation orale. L'hypothèse de recherche était que la PPC n'aurait que peu ou pas d'effets sur ces composantes de l'alimentation orale.

**Méthodes:** Huit agneaux nés à terme ont été instrumentés chirurgicalement à 2 jours de vie afin de recueillir l'activité électrique des muscles constricteurs du larynx, l'activité électrique cardiaque (ECG) et les gaz sanguins artériels. Deux jours après la chirurgie, les agneaux ont été nourris au biberon sous 4 niveaux de PPC (0, 4, 7 et 10 cm H<sub>2</sub>O) délivrée par masque nasal, ainsi qu'une 5<sup>e</sup> condition sans PPC ni masque nasal, le tout selon un ordre aléatoire et dans un plan d'étude croisé. Les mouvements respiratoires des agneaux ont été recueillis par 2 bandes élastiques (pléthysmographie respiratoire d'inductance) placées autour de l'abdomen et du thorax, et la saturation a été captée par oxymétrie pulsée.

**Résultats:** À quelques exceptions près, la PPC nasale n'a pas modifié les événements cardiorespiratoires, quelle que soit la valeur de PPC délivrée. Il en est de même pour l'efficacité et la physiologie de l'alimentation. Il est à noter que seules de minimes différences ont été observées pour certains paramètres dans les valeurs de PPC les plus élevées (7 et 10 cm H<sub>2</sub>O), sans qu'une tendance globale ne puisse toutefois en être extrapolée.

**Conclusion:** Ces résultats représentent un premier pas vers la connaissance de l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale, et tendent à démontrer la sécurité d'une telle pratique chez l'agneau nouveau-né à terme. Les prochaines études à ce sujet, qui verront certainement à se rapprocher de plus en plus de la réalité clinique en néonatalogie, seront très importantes puisqu'elles permettront de déterminer s'il est possible ou non d'utiliser la stratégie d'initiation précoce à l'alimentation orale chez les prématurés qui nécessitent l'aide respiratoire d'une PPC.

**Mots-clés:** nouveau-né, alimentation orale, coordination déglutition-respiration, chémoréflexes laryngés, événements cardio-respiratoires, pression positive continue

## **TABLE DES MATIÈRES**

<b><u>RÉSUMÉ</u></b> .....	II
<b><u>TABLE DES MATIÈRES</u></b> .....	III
<b><u>LISTE DES FIGURES</u></b> .....	IV
<b><u>LISTE DES ABRÉVIATIONS</u></b> .....	V
<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	6
<b>ALIMENTATION ORALE DU NOUVEAU-NÉ</b> .....	6
<b>DÉGLUTITION</b> .....	6
Phases .....	7
Contrôle central.....	9
Coordination DN-respiration.....	11
<b>PROBLÉMATIQUES ET STRATÉGIES D'OPTIMISATION DE L'ALIMENTATION</b> .....	13
<b>PRESSION POSITIVE CONTINUE</b> .....	15
<b>CONTEXTE DE L'ÉTUDE</b> .....	17
<b><u>AVANT-PROPOS DE L'ARTICLE</u></b> .....	19
<b><u>RÉSUMÉ EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE</u></b> .....	20
<b><u>ARTICLE</u></b>	
<i>EFFECTS OF NASAL CONTINUOUS POSITIVE AIRWAY PRESSURE ON NUTRITIVE SWALLOWING IN LAMBS</i> .....	21
<b><u>DISCUSSION</u></b> .....	46
<b>ÉVÉNEMENTS CARDIO-RESPIRATOIRES</b> .....	46
<b>EFFICACITÉ DE L'ALIMENTATION</b> .....	47
<b>COORDINATION DN-RESPIRATION</b> .....	48
<b>PERTINENCE CLINIQUE</b> .....	48
<b>LIMITATIONS DE L'ÉTUDE</b> .....	49
<b>PERSPECTIVES DE L'ÉTUDE</b> .....	50
<b><u>CONCLUSION</u></b> .....	51
<b><u>REMERCIEMENTS</u></b> .....	52
<b><u>LISTE DES PUBLICATIONS</u></b> .....	53

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1:</b> Représentation illustrée des principales étapes d'une DN .....	8
<b>Figure 2:</b> Contrôle central de la déglutition .....	10
<b>Figure 3:</b> Classification des déglutitions.....	12
<b>Figure 4:</b> Déglutitions durant une apnée.....	13
<b>Figure 5:</b> Représentation schématique de l'effet d'une PPC sur la pression dans les voies aériennes.....	16

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

CD  
DN  
DNN  
DSG  
PPC  
TA  
VSG

Centre de déglutition  
Déglutition nutritive  
Déglutition non nutritive  
Groupe déglutiteur dorsal  
Pression positive continue  
Muscle thyro-aryténoïdien  
Groupe déglutiteur ventral

## **INTRODUCTION**

La présente étude traite de l'effet d'une pression positive continue (PPC) sur l'alimentation orale chez l'agneau nouveau-né. Une brève introduction résumant les principales composantes de l'alimentation orale et le principe de fonctionnement d'une PPC est donc proposée pour aider à la compréhension des problématiques derrière ce projet.

### **Alimentation orale du nouveau-né**

Le terme «alimentation orale» désigne tout type d'alimentation qui se fait par la bouche, en opposition aux alimentations entérale et parentérale, qui elles contournent la cavité orale; pour un nouveau-né humain, l'alimentation orale implique essentiellement l'ingestion de lait, en provenance du sein ou du biberon. Plusieurs mécanismes complexes sont requis pour son bon déroulement, et peuvent parfois être déficients chez certains nouveau-nés, entraînant de multiples problèmes alimentaires (Gewolb et Vice, 2006; Thomas, 2007; Krawinkel, 2011). C'est le cas de la succion et la déglutition, qui sont souvent immatures chez les prématurés, compromettant la sécurité et l'efficacité de l'alimentation (Lau, 2007; Amaizu *et al.*, 2008). Or, rappelons que l'alimentation orale est primordiale pour le nouveau-né, entre autres puisqu'elle est conditionnelle à son congé d'hôpital. Les difficultés alimentaires constituent donc un fléau majeur en néonatalogie, et valent d'être adressées afin d'en limiter les conséquences. Puisque la présente étude s'est principalement intéressée à la composante «déglutition» de l'alimentation orale, un bref rappel de ses principales étapes est proposé (Car et Roman, 1998; Mistry et Hamdy, 2008).

### **Déglutition**

La déglutition est un acte complexe permettant le passage du contenu de la cavité orale jusqu'à l'estomac, selon une séquence stéréotypée et prédéterminée (Car et Roman, 1998) impliquant cinq paires de nerfs crâniens (V [trijumeau], VII [facial], IX [glossopharyngien], X [vague] et XII [hypoglosse]) et plus de vingt-cinq paires de muscles. Deux types de déglutitions ont été décrits: la déglutition nutritive (DN), étape

obligatoire de l'alimentation orale, et la déglutition non-nutritive (DNN), qui se déroule hors des périodes d'alimentation et sert à dégager les cavités orale et pharyngée de salive et sécrétions accumulées, protégeant ainsi le larynx et les voies respiratoires inférieures d'une pénétration de liquides. La DN et la DNN se différencient donc par leurs fonctions, par contre le déroulement de chaque déglutition isolée est le même, qu'elle soit nutritive ou non.

### Phases

Bien qu'elle soit un processus continu, la déglutition est habituellement divisée en trois phases distinctes, nommées d'après la cavité anatomique dans laquelle se trouve le bol alimentaire; sont ainsi décrites les phases orale, pharyngée et œsophagienne (voir figure 1).

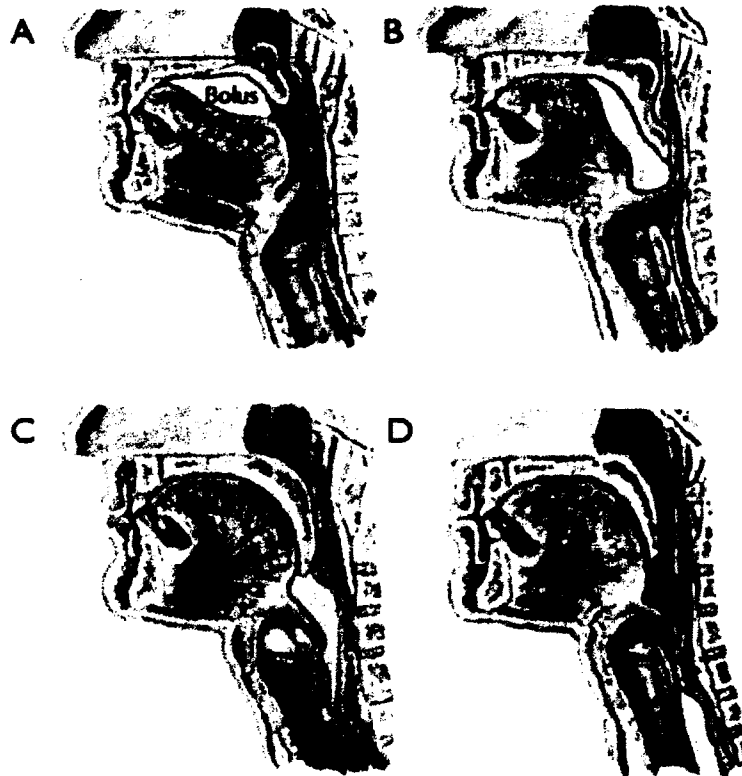
La phase orale sert à préparer et propulser le bol alimentaire de la cavité orale vers l'entrée du pharynx. Chez le nouveau-né, la préparation de la nourriture se fait essentiellement via l'extraction du lait en provenance du sein ou du biberon par la succion nutritive. Une fois le lait dans la cavité orale, la partie antérieure de la langue s'accole au palais dur et effectue un mouvement de va-et-vient vers l'arrière, ce qui amène le lait vers l'entrée du pharynx et déclenche le réflexe de déglutition pharyngée. Alors que la phase orale est sous contrôle partiellement volontaire, les étapes subséquentes de la déglutition sont des mécanismes réflexes, qui ne peuvent être interrompus une fois enclenchés.

La phase pharyngée quant à elle consiste en la propulsion du bol alimentaire vers l'entrée de l'œsophage, et c'est à ce moment précis que la protection des voies aériennes doit absolument être assurée afin d'éviter les fausses-routes. Ainsi, une fois le bol alimentaire dans le pharynx, il y a élévation du palais mou, ce qui empêche l'entrée de nourriture dans le nasopharynx. Alors que le bol progresse grâce à la contraction sériée des muscles pharyngés, le larynx est tiré vers le haut et l'avant (sous la base de la langue) et l'épiglotte bascule vers le bas, le tout protégeant au moins partiellement l'entrée du larynx. L'étanchéité complète du larynx et des voies respiratoires inférieures se fait au même moment par l'adduction des cordes vocales grâce à la contraction des muscles thyro-aryténoïdiens (TA); ces derniers sont nommés car ils jouent un rôle



important dans la méthodologie de la présente étude. Le bol alimentaire est ainsi dévié des voies aériennes et orienté vers l'entrée de l'œsophage.

Une fois le bol alimentaire accolé à l'ouverture de l'œsophage, il y a relaxation réflexe du sphincter œsophagien supérieur, permettant ainsi le passage de la nourriture. Le péristaltisme primaire du muscle œsophagien assure ensuite la propulsion du bol jusqu'au sphincter œsophagien inférieur, qui se relâche et permet l'entrée de la nourriture jusque dans l'estomac, où le processus de digestion peut débuter.



**Figure 1: Représentation illustrée des principales étapes d'une déglutition** (illustrations par F. H. Netter). A: Phase orale de la DN; la langue s'accroche au palais dur et propulse le bolus vers l'arrière. B: Phase pharyngée de la DN; le bolus se retrouve dans l'oropharynx, et le nasopharynx est protégé par l'élévation du palais mou. C: Continuité de la phase pharyngée de la DN; le larynx s'élève et l'épiglotte s'abaisse, protégeant l'entrée du larynx. L'adduction des cordes vocales n'est pas illustrée. D: Phase œsophagienne de la DN; péristaltisme du muscle œsophagien.

### Contrôle central

Les nombreux muscles impliqués dans la déglutition sont contrôlés par le «centre de déglutition» (CD), un réseau de neurones situé principalement au niveau du bulbe rachidien. Le contrôle central de la déglutition s'effectue en trois étapes distinctes (voir figure 2); des afférences en provenance de la périphérie et/ou du cortex cérébral sont amenées au bulbe rachidien (étape sensitive), puis le CD organise la séquence motrice à venir (étape organisatrice) et envoie des efférences aux motoneurones qui contrôlent les muscles de la DN (étape motrice). Une brève description de ces étapes est proposée dans les lignes qui suivent (Ertekin et Aydogdu, 2003; Mistry et Hamdy, 2008).

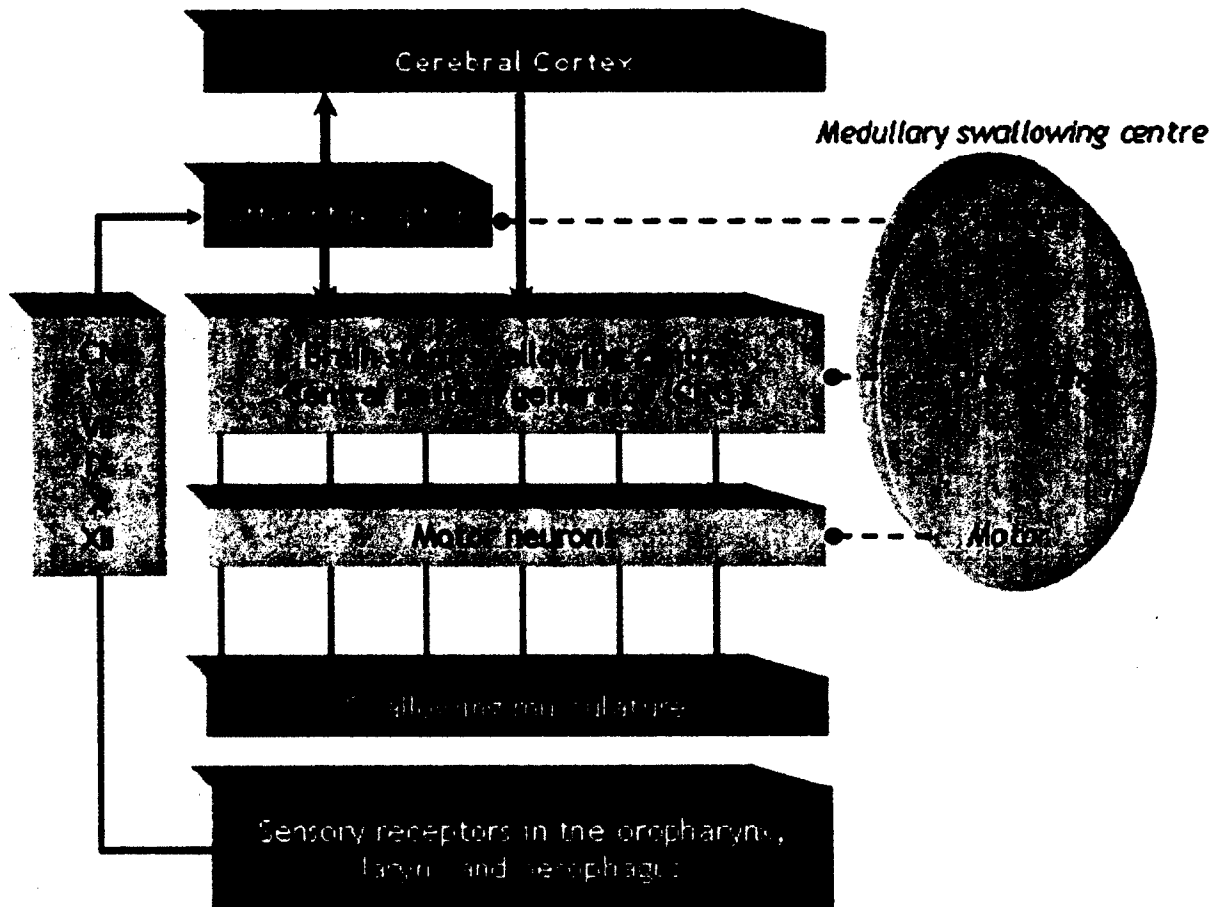
L'étape sensitive est nécessaire au déclenchement du réflexe de déglutition et à sa modulation. Le bol alimentaire stimule les récepteurs sensitifs de l'oropharynx, qui envoient des afférences sensibles jusqu'au bulbe rachidien via les nerfs crâniens V, IX et X, tout spécialement via la branche laryngée récurrente de ce dernier. Des informations par rapport à la présence d'un bolus ainsi qu'à ses qualités (texture, quantité) sont ainsi transmises au CD, ce qui non seulement débute le processus de déglutition mais sert également à déterminer l'intensité de l'activité musculaire nécessaire à la déglutition. Certaines afférences sont relayées jusqu'au cortex cérébral, qui exerce à son tour un contrôle complexe sur les différentes étapes de la déglutition.

L'étape organisatrice met en jeu deux groupes d'interneurones: l'amas dorsal (DSG, pour «dorsal swallowing group») situé dans le noyau du faisceau solitaire et l'amas ventral (VSG, pour «ventral swallowing group»), situé dans la formation réticulée entourant le noyau ambigu. Le DSG est celui qui reçoit les afférences en provenance de la périphérie et déclenche et programme l'acte de déglutition. Le VSG quant à lui distribue l'excitation reçue du DSG aux noyaux des nerfs crâniens innervant les muscles de la déglutition.

Durant l'étape motrice, les nerfs crâniens V, VII, IX, X et XII stimulent les nombreux muscles impliqués dans la déglutition selon la séquence prédéterminée par l'étape organisatrice, et le bol alimentaire est propulsé vers l'estomac grâce à la contraction de ces muscles.

Ces trois étapes sont décrites de façon distincte pour assurer une meilleure compréhension, mais il convient de rappeler que toutes trois sont actives à tout moment

d'une déglutition. En effet, des afférences sensibles en provenance du pharynx/larynx/œsophage sont constamment envoyées au tronc cérébral au fur et à mesure de la progression du bol alimentaire vers l'estomac, ce qui permet un réajustement constant du programme de déglutition.

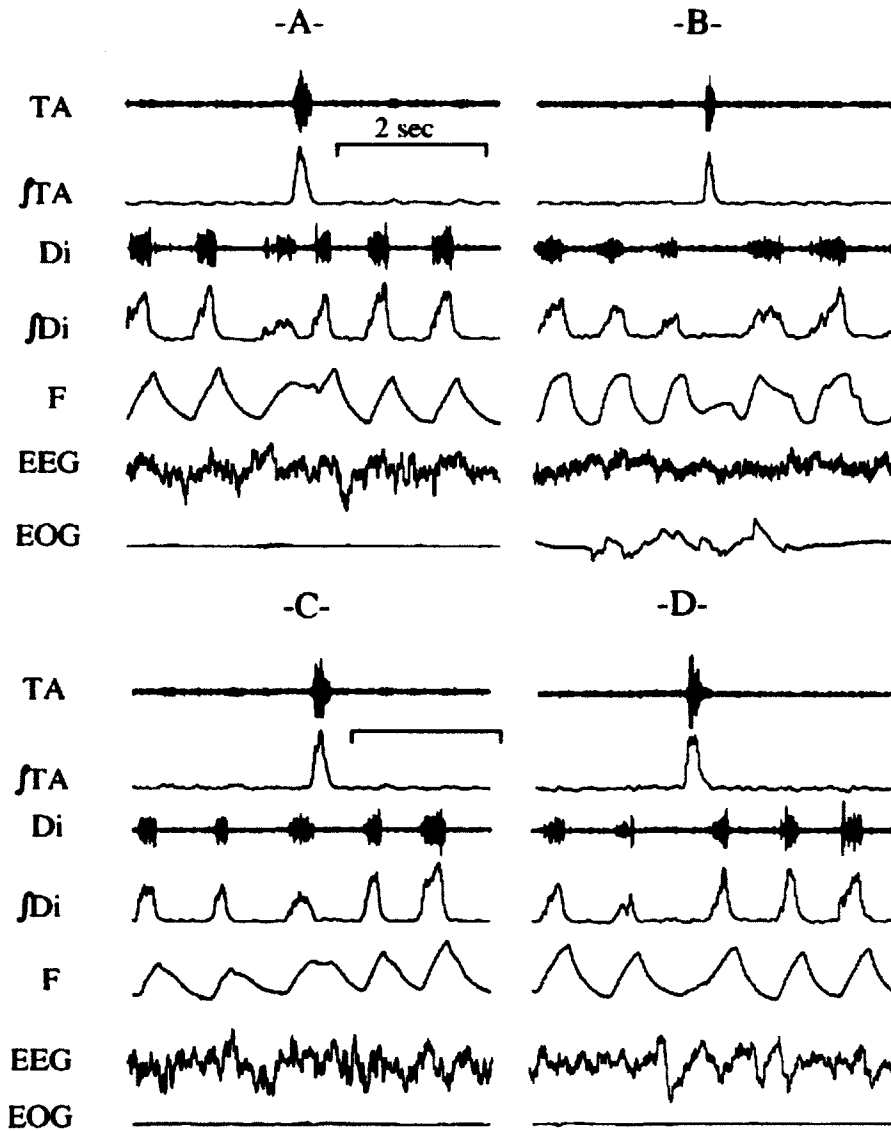


**Figure 2: Contrôle central de la déglutition (Mistry et Hamdy, 2008).**

Des afférences de la périphérie et du cortex cérébral se relaient aux interneurons du centre de déglutition dans le bulbe rachidien, où s'effectue l'organisation de la séquence motrice à venir. Des efférences vers les motoneurons contrôlant les muscles de la déglutition sont ensuite relayées à ces derniers via les noyaux des nerfs crâniens.

### Coordination DN-respiration

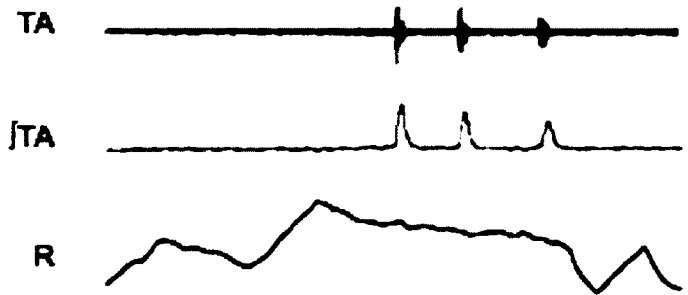
La déglutition et la respiration ne peuvent s'effectuer simultanément; il est bien connu qu'une pause respiratoire, causée par l'inhibition des centres respiratoires, est toujours notée lors de la déglutition (Mistry et Hamdy, 2008; Martin-Harris, 2006). Ainsi, bien que la fermeture de l'entrée du larynx lors de la phase pharyngée de la déglutition arrive au même moment que la pause respiratoire, elle n'en est pas la cause directe. Néanmoins, en raison de cette pause, une fine coordination doit s'établir entre la déglutition et la respiration lors de l'alimentation afin d'éviter les aspirations trachéales et les apnées prolongées. La qualité de cette coordination est habituellement évaluée en classifiant les déglutitions selon leur position dans le cycle respiratoire. Différents systèmes de classification peuvent être utilisés, décrivant de 4 à 9 types de DN. Le système privilégié par notre laboratoire (Reix *et al.*, 2003) depuis plusieurs années comprend 4 classes de déglutitions (voir figure 3), définies par deux lettres représentant les phases respiratoires (inspiration ou expiration) précédant et suivant la déglutition: ii (déglutition précédée et suivie d'une inspiration), ee (déglutition précédée et suivie d'une expiration), ie (déglutition précédée d'une inspiration et suivie d'une expiration) et ei (déglutition précédée d'une expiration et suivie d'une inspiration). Un cinquième type de déglutition a été ajouté pour les besoins de cette étude, le type ap (voir figure 4), qui représente les déglutitions se déroulant durant une apnée (pause respiratoire prolongée).



**Figure 3: Classification des déglutitions (Reix *et al.*, 2003).**

A: Type ii. B: Type ee. C: Type ie. D: type ei. TA: signal brut du muscle thyro-aryténoïdien;  $\int$ TA: signal intégré du TA; Di: signal brut du diaphragme;  $\int$ Di: signal intégré du Di; F: flux aérien; EEG: électroencéphalogramme; EOG: électrooculogramme.

L'intérêt de classer les déglutitions de cette façon réside dans le fait que le danger d'aspiration trachéale est plus ou moins grand selon la phase respiratoire durant laquelle se produit la déglutition (Lau, 2007; Amaizu *et al.*, 2008). En effet, une déglutition de type ii représente plus de risques d'aspirations qu'une déglutition de type ee, et les déglutitions les moins risquées seraient celles qui se déroulent à la transition entre l'inspiration et l'expiration (ie et ei), puisque le flux aérien y est naturellement interrompu (Lau, 2007). On sait également que la coordination DN-respiration varie avec la maturité, les prématurés de < 30 semaines de gestation ayant tendance à déglutir durant une apnée ou durant l'inspiration (Lau *et al.*, 2003; Mizuno et Ueda, 2003), tandis que les nouveau-nés à terme tendent à déglutir plutôt à la fin de l'inspiration ou de l'expiration (Lau, 2007). Cette classification des déglutitions permet donc une évaluation pertinente de la coordination DN-respiration sous différentes conditions.



**Figure 4: Déglutitions durant une apnée.** R: respiration. Voir figure 3 pour les autres abréviations.

### **Problématiques et stratégies d'optimisation de l'alimentation**

Avec un taux de survie presque constamment croissant des nouveau-nés prématurés de 1980 à aujourd'hui (Wen *et al.*, 2004; Kochanek *et al.*, 2009), les trente dernières années ont apporté leur lot de défis aux cliniciens néonatalogistes, en particulier en ce qui a trait à l'alimentation orale. En effet, contrairement aux nouveau-nés à terme qui peuvent généralement s'alimenter au sein ou au biberon dès leur naissance, les prématurés sont sujets à plusieurs difficultés alimentaires, principalement en raison de l'immaturité de leur coordination DN-respiration (Mizuno et Ueda, 2003; Barlow, 2009). Ces importantes difficultés amènent les cliniciens à choisir l'alimentation entérale (par sonde naso ou orogastrique) plutôt qu'orale chez les grands prématurés (Lau, 2007), en raison des dangers que représente un défaut de coordination DN-respiration pour le nouveau-né. Ce défaut peut en effet se traduire à court terme par la

survenue d'événements cardiorespiratoires délétères parfois secondaires aux aspirations trachéales (Thach, 2008; Delaney et Arvedson, 2008; Praud, 2010), et à moyen/long terme par une aversion pour la nourriture pouvant limiter la croissance normale du nouveau-né et pouvant entraîner le port d'une sonde nasogastrique de façon chronique, voire même l'installation d'une gastrostomie (Thoyre, 2007; Barlow, 2009). Traditionnellement, la transition de l'alimentation entérale à orale se fait vers 33-34 semaines de gestation, à un âge où la coordination DN-respiration est semblable à celle d'un nouveau-né à terme (Lau, 2007; Delaney et Arvedson, 2008). Malgré cette coordination efficace, l'apprentissage de l'alimentation orale est un processus complexe et exigeant pour le prématuré en raison des diverses pathologies qu'il peut présenter, ce qui retarde de plusieurs jours/semaines son sevrage du tube naso/orogastrique vers l'autonomie alimentaire, c'est-à-dire l'alimentation orale exclusive. L'autonomie alimentaire étant directement liée à l'obtention du congé d'hôpital (Schanler *et al.*, 1999), la dépendance à un tube naso ou orogastrique pour l'alimentation retarde très souvent le départ d'hôpital de certains nouveau-nés prématurés.

Dans les dernières années, plusieurs équipes de néonatalogie ont montré que l'un des déterminants principaux de la rapidité de progression de l'alimentation entérale à orale est la possibilité d'apprentissage de l'oralité. L'une des études les plus importantes à ce sujet est celle de Simpson (Simpson *et al.*, 2002), au cours de laquelle l'alimentation orale a été introduite de façon précoce (31<sup>e</sup> semaine post conceptionnelle) pour un groupe expérimental, et à un âge plus traditionnel pour un groupe contrôle (33-34<sup>e</sup> semaines post-conceptionnelles), selon un patron de progression rigoureux et identique pour les deux groupes. Dans cette étude, le groupe expérimental a atteint l'alimentation orale totale 1 semaine plus tôt que le groupe contrôle, ce qui constitue une différence très importante dans la vie d'un prématuré. Des résultats similaires ont été trouvés avec un protocole de stimulations orales non-nutritives (ex.: succion non-nutritive) administrées 15 minutes par jour pendant 10 jours, qui a entraîné une transition de l'alimentation entérale à orale 1 semaine plus tôt chez le groupe expérimental par rapport au groupe contrôle (Fucile *et al.*, 2002). Ces études portent donc à croire que l'apprentissage de l'alimentation orale pourrait sans danger être initié plus tôt qu'il ne l'est fait traditionnellement et apporter un bénéfice au nouveau-né, lui

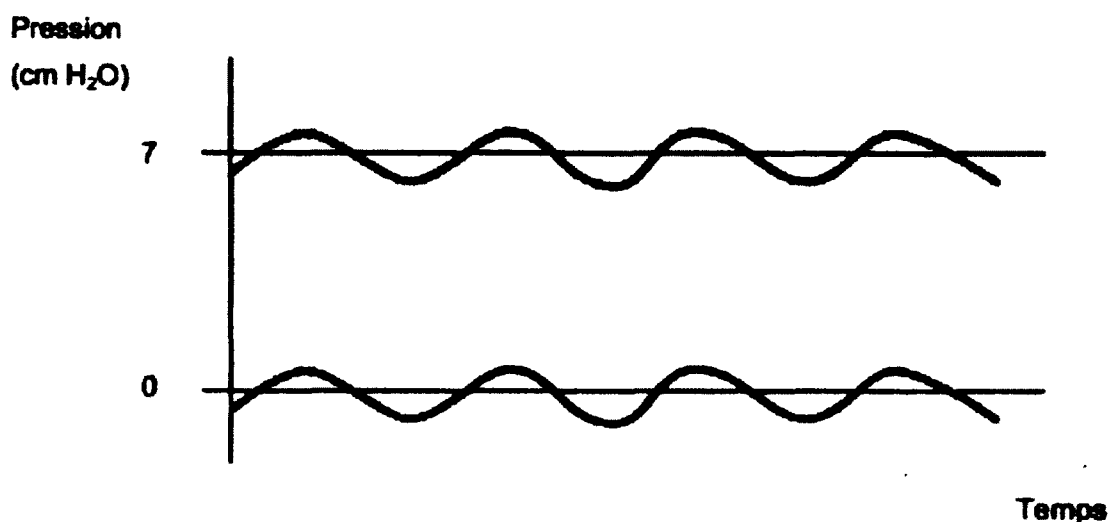
permettant d'acquérir son autonomie alimentaire plus précocement. Toutefois, ces expérimentations ayant été menées chez des prématurés dont la santé était stable et qui ne nécessitaient pas d'appareillage technique pouvant interférer avec l'alimentation, comme la PPC, il va sans dire que l'on ne peut extrapoler ces résultats à la situation d'un nouveau-né instable qui nécessite de tels appareillages. Ainsi, les meilleures stratégies d'optimisation de l'alimentation chez cette grande catégorie de prématurés restent toujours à découvrir.

### **Pression positive continue**

La pression positive continue est un dispositif d'aide respiratoire utilisé dans le traitement de plusieurs pathologies du prématuré, notamment pour les apnées de prématurité et lors du sevrage de la ventilation mécanique, particulièrement en cas de dysplasie bronchopulmonaire (Roehr *et al.*, 2007; Chowdhury *et al.*, 2011). Par conséquent, un grand nombre de nouveau-nés prématurés nécessite l'aide respiratoire d'une PPC durant plusieurs semaines (Mahmoud *et al.*, 2011).

La PPC est administrée de façon non-invasive par voie nasale, soit par des lunettes ou un masque, le tout laissant la bouche de l'enfant libre. Un prérequis à l'application d'un tel dispositif est la présence d'une commande et d'efforts respiratoires efficaces de la part du patient, car la PPC ne peut faire le travail respiratoire à sa place et est donc inefficace chez un patient qui ne respire pas; en ce sens elle est considérée comme une aide à la respiration, et non pas un mode de ventilation. Son principe de fonctionnement est qu'elle maintient les valeurs de pression dans les voies aériennes à un niveau supérieur à la pression atmosphérique (i.e. pression positive), et ce durant tout le cycle respiratoire, contrairement à ce qui produit sans PPC, où les valeurs de pression dans les voies aériennes sont infra-atmosphériques lors de l'inspiration (voir figure 5). Différents niveaux de PPC peuvent être utilisés, variant généralement dans une gamme allant de 1 à 10 cm H<sub>2</sub>O, cette dernière valeur étant très élevée et rarement nécessaire; la valeur de PPC la plus fréquemment utilisée par les différentes institutions serait d'environ 4,5 cm H<sub>2</sub>O (Roehr *et al.*, 2007).





**Figure 5: Représentation schématique de l'effet d'une PPC sur la pression dans les voies aériennes.**

Tracé du bas: pression dans les voies respiratoires sans PPC. Tracé du haut: pression dans les voies respiratoires avec PPC de 7 cm H<sub>2</sub>O. La PPC augmente la ligne de base de la pression dans les voies respiratoires durant tout le cycle respiratoire.

Le fait de maintenir une PPC adaptée dans les voies respiratoires entraîne plusieurs effets physiologiques bénéfiques pour le nouveau-né, notamment l'augmentation de la capacité résiduelle fonctionnelle et l'amélioration de la compliance pulmonaire, le tout assurant une ventilation alvéolaire plus adéquate et justifiant ses utilisations cliniques citées plus haut (Mesiano et Davis, 2008). Ces effets bénéfiques sont principalement dus à la pression de fin d'expiration positive qu'engendre la PPC, ce qui permet de limiter l'atélectasie. Il a également été montré que la PPC peut réduire le travail respiratoire à fournir par le nouveau-né (Elgellab *et al.*, 2001; Boumecid *et al.*, 2007) via l'augmentation de la compliance pulmonaire et la diminution de la résistance des voies aériennes supérieures, ce qui en fait un pont idéal entre la ventilation mécanique et la respiration spontanée sans aide.

## **Contexte de l'étude**

La présente étude a pour but d'évaluer les effets d'une PPC sur l'alimentation orale. L'idée de mettre en place un tel projet découle d'une controverse clinique actuelle quant à la possibilité d'alimenter un nouveau-né par la bouche lorsqu'il est sous PPC. En effet, certains centres semblent le faire de routine (Bonner et Mainous, 2008; de Klerk, 2004), alors que d'autres choisissent de ne pas initier l'alimentation orale lorsqu'un nouveau-né est sous PPC (Nyqvist, 2008). Or, puisque l'initiation précoce à l'alimentation orale est une stratégie très efficace d'optimisation de l'alimentation (Simpson *et al.*, 2002) et qu'un nombre considérable de nouveau-nés prématurés nécessite l'aide respiratoire d'une PPC dans les premières semaines de vie (Mahmoud *et al.*, 2011), le fait de ne pas alimenter oralement les nouveau-nés sous PPC peut retarder l'autonomie alimentaire de plusieurs d'entre eux. À notre connaissance, l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale du nouveau-né n'a jamais été étudié, rendant le choix de la pratique ardu puisque arbitraire.

L'une des principales craintes des néonatalogistes en ce qui concerne l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale semble être la survenue de pénétration laryngée et d'aspirations trachéales de lait et de leurs conséquences cardio-respiratoires délétères (apnées, bradycardies, désaturations) (Praud, 2010; St-Hilaire *et al.*, 2007; Thach, 2008). Un fait amenant à penser qu'il pourrait y avoir un plus grand nombre d'aspirations sous PPC est la dilatation de l'ouverture laryngée que cette aide respiratoire entraîne chez le nouveau-né prématuré (Gaon *et al.*, 1999), ce qui peut faire craindre qu'une ouverture laryngée persiste même lors de la déglutition. Cette dernière crainte ne demeure toutefois qu'au stade d'hypothèse, car à notre connaissance aucune étude n'a pu vérifier l'ouverture laryngée lors d'une déglutition sous PPC. De plus, des études antérieures de notre laboratoire (Samson *et al.*, 2005; Samson *et al.*, 2008) laissent penser que la PPC pourrait entraîner une altération néfaste de l'efficacité de la déglutition, par la diminution du nombre de DNN sous PPC; cette même altération pour les DN serait d'autant plus inquiétante, puisque l'alimentation orale nécessite une fréquence élevée de déglutitions. Par ailleurs, une récente étude non publiée de notre équipe sur un modèle ovin prématuré a montré que la PPC (6 cm H<sub>2</sub>O) prévient la survenue d'événements cardio-respiratoires sévères lors de l'induction de

chémoréflexes laryngés par le lait, suggérant que la PPC pourrait ne pas être néfaste, voire même être bénéfique, lors de l'alimentation orale.

L'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale, notamment sur sa sécurité, son efficacité et sa physiologie (coordination DN-respiration), chez un modèle ovin nouveau-né, né à terme et considéré «en santé». Ce modèle a été préconisé par rapport au modèle ovin prématuré car cette étude est la toute première à s'intéresser au sujet, et se voulait donc plus physiologique que clinique. D'autre part, il apparaissait important de déterminer si l'alimentation orale sous PPC était possible chez un nouveau-né à terme tout d'abord, en émettant l'hypothèse que si un nouveau-né à terme ne pouvait le faire, un prématuré ne le pourrait probablement pas non plus, ses mécanismes étant moins matures.

## **AVANT-PROPOS DE L'ARTICLE**

**Titre:** Effects of Nasal Continuous Positive Airway Pressure on Nutritive Swallowing in lambs

**Auteurs:** Anne Bernier, Céline Catelin, Mohamed Amine Hadj Ahmed, Nathalie Samson, Pauline Bonneau, Jean-Paul Praud.

**Statut de l'article:** article publié dans le *Journal of Applied Physiology*, soumis le 19 décembre 2011, accepté dans sa forme finale le 1<sup>er</sup> avril 2012, publié pour la première fois le 12 avril 2012. **Référence:** Bernier A, Catelin C, Ahmed MA, Samson N, Bonneau P, Praud JP. Effects of nasal continuous positive airway pressure on nutritive swallowing in lambs. *J Appl Physiol* 112, 1984–1991 (2012).

**Contribution des auteurs:** L'article qui suit fut écrit en majeure partie par moi-même, mais Drs Catelin, Praud et Samson y ont également apporté leur grande contribution, particulièrement pour la révision. Les figures et tableaux qui s'y trouvent ont été réalisés par moi. Cet article a été écrit spécifiquement pour mon projet de recherche, et tous les résultats pertinents de ce dernier y sont présentés; il est donc parfaitement représentatif de l'ensemble de mon projet de maîtrise. J'ai participé à élaborer les expérimentations décrites dans l'article avec Drs Catelin, Praud et Samson, et réalisé chacune des expérimentations avec l'aide de Mohammed Amine Hadj Ahmed et Nathalie Samson. Tous les résultats ont été analysés par moi-même avec l'aide de Pauline Bonneau. Les analyses statistiques ont été réalisées par moi-même.

## **RÉSUMÉ EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE**

Les connaissances actuelles suggèrent que l'autonomie alimentaire chez les nouveau-nés prématurés est favorisée par une initiation précoce à l'alimentation orale, souvent à un âge où l'immaturité de la respiration entraîne le besoin d'une aide ventilatoire sous la forme d'une pression positive continue (PPC). Alors que certains néonatalogistes rapportent un grand succès avec l'initiation de l'alimentation orale chez des prématurés sous PPC, d'autres préfèrent attendre que l'aide ventilatoire ne soit plus requise avant de tenter l'alimentation orale, craignant une pénétration de nourriture dans le larynx et aspiration trachéale secondaire. Ainsi, le but de cette étude était de fournir une première évaluation de l'effet de différents niveaux de PPC sur l'alimentation orale au biberon chez un modèle ovin néonatal, en analysant la sécurité, l'efficacité et la physiologie (coordination déglutition-respiration) de l'alimentation. Huit agneaux nés à terme ont été instrumentés chirurgicalement à 48 heures de vie, de façon à pouvoir recueillir l'activité électrique des muscles constricteurs du larynx, l'électrocardiogramme et les gaz sanguins artériels. Deux jours après la chirurgie, les agneaux ont été nourris au biberon sous 5 différents niveaux de PPC, soit un mode sans PPC ni masque nasal et 4 autres modes avec masque nasal et PPC à 0, 4, 7 et 10 cm H<sub>2</sub>O, le tout présenté de façon randomisée. Les résultats ont révélé que l'application d'une PPC chez l'agneau à terme n'a pas d'effet délétère sur la sécurité, l'efficacité ou la physiologie de l'alimentation. La présente étude fournit une première et unique évaluation de l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale, démontrant sa sécurité chez l'agneau né à terme. Ces résultats ouvrent la voie pour de futures recherches chez l'agneau prématuré, qui permettront une meilleure représentation des problèmes rencontrés en néonatalogie.

# **EFFECTS OF NASAL CONTINUOUS POSITIVE AIRWAY PRESSURE ON NUTRITIVE SWALLOWING IN LAMBS**

Anne Berniert, Céline Catelin<sup>†</sup>, Mohamed Amine Hadj Ahmed<sup>†</sup>, Nathalie Samsont,  
Pauline Bonneaut, Jean-Paul Praud<sup>†</sup>

<sup>†</sup>Neonatal Respiratory Research Unit, Departments of Pediatrics and Physiology

<sup>†</sup>Neonatology Division, Department of Pediatrics

Université de Sherbrooke, QC, Canada – J1H 5N4

**Short title:** Nasal CPAP and nutritive swallowing

**Address for correspondence and proofs:**

Jean-Paul Praud MD PhD

Phone: (819) 346-1110, ext 14851

Departments of Pediatrics and Physiology

Fax: (819) 564-5215

Université de Sherbrooke

email: Jean-Paul.Praud@USherbrooke.ca

J1H 5N4, QC Canada

## **ABSTRACT**

Current knowledge suggests that, to be successful, oral feeding in preterm infants should be initiated as soon as possible, often at an age where immature respiration still requires ventilatory support in the form of nasal continuous positive airway pressure (nCPAP). While some neonatologist teams claim great success with initiation of oral feeding in immature infants with nCPAP, others strictly wait for this ventilatory support to be no longer necessary before any attempt at oral feeding, fearing laryngeal penetration and tracheal aspiration. Therefore, the aim of the present study was to provide a first assessment of the effect of various levels of nCPAP on bottle-feeding in a neonatal ovine model, including feeding safety, feeding efficiency and nutritive swallowing-breathing coordination. Eight lambs born at term were surgically instrumented 48 hours after birth, in order to collect recordings of electrical activity of laryngeal constrictor muscle, electrocardiography and arterial blood gases. Two days after surgery, lambs were bottle-fed under 5 randomized nCPAP conditions, including without any nCPAP or nasal mask and nCPAP of 0, 4, 7 and 10 cmH<sub>2</sub>O. Results revealed that application of nCPAP in the full-term lamb had no deleterious effect on safety, feeding efficiency or on nutritive swallowing-breathing coordination. The present study provides a first and unique insight on the effect of nCPAP on oral feeding, demonstrating its safety in newborn lambs born at term. These results open the way for further research in preterm lambs to better mimic the problems encountered in neonatology.

**KEYWORDS:** Newborn, bottle-feeding, nutritive swallowing-breathing interaction, laryngeal chemoreflexes

## **INTRODUCTION**

Feeding difficulties represent one of the most worrisome problems in preterm infants (1, 3). Preterm oral feeding is a complex developmental skill. Feeding readiness depends on neurological maturation, severity of illness and pre-feeding autonomic, motor, and behavioral state organization (39, 42). Overall neural immaturity, as well as various disorders frequently encountered in preterm infants such as neurological, digestive and respiratory problems, is often responsible for delaying feeding maturation and consequently extending hospital length of stay. In addition, the multiple aversive oral and/or nasal procedures such as suctioning of oronasal secretions, insertion and retrieval of nasogastric tube and endotracheal or nasal ventilatory support, which are used several times a day in preterm infants, often lead to hypersensitivity of the facial area and interfere with feeding maturation (1). Not infrequently, orofacial hypersensitivity leads to feeding problems for years (3, 40). Various strategies have been developed in an attempt to enhance the acquisition of feeding skills and prevent the above difficulties in premature infants. Non-nutritive sucking has been shown to accelerate transition from tube to bottle-feeding and better bottle-feeding performance (25). Early introduction of oral feeding has also been reported to accelerate feeding maturation (24, 35). Hence, very early development of oral motor competence has been observed with initiation of breastfeeding between 29 and 33 weeks of postmenstrual age, full breastfeeding being reached at a postmenstrual age as low as 32 weeks (23). However, preterm infants are often dependent on nasal continuous positive airway pressure (nCPAP) for several weeks after birth (17). A number of neonatology teams refuse to initiate oral feeding in infants while on nCPAP (23), fearing laryngotracheal penetrations and pulmonary aspirations of milk with the consequent potentially deleterious cardiorespiratory events (27, 37, 38). On the other hand, some neonatologists defend the introduction of oral feeding in preterm infants while on nCPAP, as soon as cardiorespiratory stability is present (4, 6). To our knowledge, a detailed assessment of the effect of nCPAP on oral feeding in the neonatal period is not available. The aim of the present study was to provide a first assessment of the effect of various levels of nCPAP on bottle-feeding in a neonatal ovine model, including safety (i.e. presence of cardiorespiratory events), feeding efficiency and nutritive swallowing-breathing coordination.



## **MATERIAL AND METHODS**

### **Animals**

A total of 8 mixed-breed lambs were included in the study. All lambs were born at term by spontaneous vaginal delivery at our local provider's farm and arrived in our animal quarters 1-2 days after birth. The study protocol was approved by the ethics committee for animal care and experimentation of our institution.

### **Surgical preparation**

Aseptic surgery was performed in all lambs 2-3 days after birth under general anesthesia (2% isoflurane, 30% N<sub>2</sub>O, 68% O<sub>2</sub>). Anesthesia was preceded by an intramuscular injection of ketamine (10 mg/kg), atropine sulfate (0.1 mg/kg), morphine (0.016 ml/kg) and antibiotics (5 mg/kg gentamicin and 50 mg ampicillin) and an intravenous bolus of Ringer's lactate solution (10 ml/kg). One dose of ketoprofen (3 mg/kg) was also injected intramuscularly for analgesia and repeated if needed on the next day. Lambs were mechanically ventilated through an orotracheal tube (4.5 mm) during the surgical procedure. Heart rate, rectal temperature, pulse oximetry, end-tidal CO<sub>2</sub> and venous pH were continuously monitored throughout surgery.

Chronic instrumentation included placement of custom-made bipolar electrodes, built from right-angled gold connectors (Sullins Connector Solutions, Digi-Key Corporation, Thief River Falls, MN, USA), into both thyroarytenoid muscles (TA; a glottal constrictor) through the lateral aspect of the thyroid cartilage for electromyographic (EMG) recording. An electrocardiogram (ECG) was recorded with 2 needle-electrodes (F-E2M, Grass Technologies, West Warwick, RI) inserted under the periosteum of the 5<sup>th</sup> rib, on both sides of the thorax, and directly glued on the rib (5). A third needle-electrode was inserted under the scalp as a ground. Finally, a catheter was placed into the left carotid artery to monitor arterial blood gases (PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>) and pH and was left in place for the entire duration of the study. Leads from each electrode and catheter were subcutaneously tunneled to a common exit on the back of the animal. Post-operative care included intramuscular injection of gentamicin (5 mg/kg, daily) and ampicillin (50 mg, twice a day) until the end of the experimentation. The arterial catheter was flushed

daily with heparin solution. Lambs were euthanized at the end of experiments by pentobarbital overdose (90mg/kg). Correct electrode and catheter positioning was systematically verified at necropsy.

### **Experimental equipment**

#### **Ventilatory equipment**

Nasal continuous positive airway pressure (nCPAP) was induced using the Infant Flow nCPAP system (Cardinal Health, Dublin, OH) with heated, humidified air. A nasal mask custom-made from a plaster shell filled with dental paste (in order to reduce dead space as much as possible) was installed on the lamb's muzzle to deliver nCPAP, in such a manner that the lamb was able to open its mouth at will and drink from a bottle (34).

#### **Recording equipment**

Lamb instrumentation was completed immediately before recordings. A pulse oximeter probe (Masimo Radical, Irvine, CA) was attached at the base of the tail for continuous monitoring of oxygen hemoglobin saturation by pulse oximetry (SpO<sub>2</sub>). Arterial blood gases and pH were also measured (IL 1306; Instrumentation Laboratory, Lexington, MA) and corrected for rectal temperature of the lamb (2). In addition, elastic bands for respiratory inductance plethysmography (Respirace, NIMS, Miami Beach, FL) were installed on the thorax and abdomen to monitor respiratory movements and assess lung volume variations qualitatively. Finally, nCPAP values were continuously monitored from the nasal mask (RX104A pressure transducer, Biopac System, Goleta, CA, USA). All recordings were performed in awake lambs, using our custom-designed radio telemetry system (32). All leads from each electrode were thus connected to this radio telemetry system, in order to obtain prolonged recordings in non-sedated lambs under the least possible restraining conditions. The raw EMG signals were rectified, integrated, and moving time averaged (100 ms). All parameters were continuously recorded on a PC using AcqKnowledge software (version 4.1; Biopac Systems, Goleta, CA, USA) and the entire recording period was filmed using a webcam, allowing us to verify the behavioral state of the lamb during data analysis.

### **Design of the study**

All lambs were cared for without their mother upon arrival in our animal quarters, due to specific needs of the study regarding bottle-feeding familiarization. They were placed in a Plexiglas chamber (1.2 m<sup>3</sup>; in agreement with recommendations by the Canadian Council for Animal Care for sheep housing) with holes to allow for air circulation. A bottle filled with reconstituted ewe's milk, from which lambs could drink freely, was placed permanently in the chamber.

The study was performed without sedation at least 45 hours after surgery and was designed to allow for simultaneous recording of nutritive swallowing (NS) activity, respiratory movements, ECG and SpO<sub>2</sub> while bottle-feeding under different nCPAP conditions. The lambs were comfortably positioned in a sling with loose restraints. Two experimenters were present throughout the recordings to note lamb behavior.

Five different nCPAP conditions were randomly assessed, namely, no nasal mask; nasal mask only, i.e. no CPAP or breathing tube (nCPAP0); and nCPAP 4, 7 and 10 cm H<sub>2</sub>O respectively. These pressure values were chosen on the basis of those reported in clinical practice (22, 30). In each condition, following a basal recording of 5 minutes, the lambs were offered a bottle filled with reconstituted ewe's milk, heated to 39°C. The nipple of the bottle was the same as the one they had drunk from in the Plexiglas chamber. The quantity of milk offered was the same in each condition and was determined from their feeding habits in the previous days. NCPAP conditions were separated from each other by two hours, during which the lambs were placed in the Plexiglas chamber without milk, to ensure that they were hungry enough for each condition. The first condition of the morning was also preceded by two hours without milk. In each condition, the bottle was offered to the lambs a maximum of three times, after which the feeding episode was considered finished. Reasons to pause feeding were mainly lamb discomfort/agitation or lamb refusing to drink. Recordings were continued for 10 minutes after feeding. Blood samples from the arterial catheter were taken before feeding and at 0, 5 and 10 minutes thereafter. Rectal temperature was also taken before and after feeding. Every effort was made to assess the five nCPAP conditions on the same day.

### **Data analysis**

All signals were carefully observed and analyzed in relation with the time period (before, during or after feeding) as well as with the nCPAP condition (verified via the mask pressure trace) and the behavioral state of the lamb, which was determined from the video recorded during the experiments.

### **Cardiorespiratory variables**

For each nCPAP condition, baseline values (i.e., pre-feeding values) for heart and respiratory rates (respectively, HR and RR) as well as SpO<sub>2</sub> were averaged on a period of 30 seconds. The 30 s period closest to the feeding episode during which the lambs were calm was chosen. Heart rate, RR and SpO<sub>2</sub> during and after feeding were also calculated. For during-feeding values, the latter were obtained by averaging the values of three periods of 30 seconds taken at the beginning, the middle and the end of the feeding episode. This averaging during the feeding episode was justified by the absence of any significant differences between the three periods in all lambs. Analyses of cardiorespiratory responses during and after feeding were mostly performed as previously described for laryngeal chemoreflex analysis (36). Briefly, the number of HR slowings (defined by a % decrease of HR  $\geq$  33%) and bradycardias (HR slowing lasting > 5s) were noted, and the % of time spent in bradycardia was tabulated. The number of apneas (defined as at least 2 missed breaths relative to baseline breathing) and the % of time spent in apnea were also noted. Finally, the number of desaturations < 90 and 80% and the % of time spent with SpO<sub>2</sub> < 90 and 80% were calculated.

### **Swallowing activity**

Nutritive swallowing activity was recognized by a brief, high-amplitude TA EMG burst, as previously validated (29). To assess the relation between NS and respiration, NS were assigned to one of five types depending on the respiratory phase preceding and following NS: ee-type (preceded and followed by expiration), ei-type (at the transition from expiration to inspiration), ie-type (at the transition from inspiration to expiration), ii-type (preceded and followed by inspiration) (29) and ap-type (NS occurring during an apnea). Rhythmic stability of feeding was quantified using the coefficient of variation

(COV: SD of the mean interval, divided by the mean interval) (12). Swallow-breath (NS-BR) and breath-breath (BR-BR) intervals were measured and their COVs calculated (11). Only NS and breaths occurring during NS runs were used for analysis of rhythms. A NS run was defined as three or more NS with inter-swallow intervals of  $\leq 2$  seconds (12). Feeding efficiency was also assessed and included volume of milk intake per unit time (mL/min) or per NS (mL/NS), NS frequency, % of total NS in runs and COV of NS-NS interval.

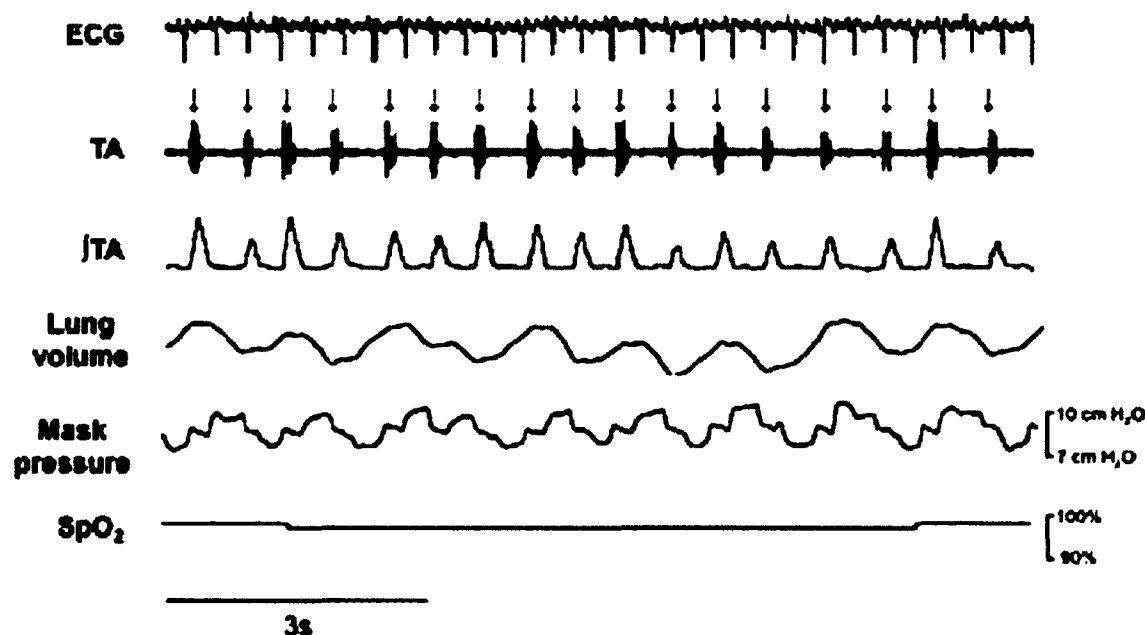
### **Statistical analysis**

Results were first averaged in each lamb and then averaged for the 8 lambs as a whole. Values were expressed as means and SD. Statistical analyses were performed on raw data for all variables. Normality was tested using the Shapiro-Wilk test. Cardiorespiratory variables, arterial blood gases and NS-types were analyzed through a general linear model 2-way ANOVA for repeated measures. The independent variables for cardiorespiratory variables and blood gases were the nCPAP condition and the time period, while the independent variables for NS percentage were the nCPAP condition and the NS-type. Other data, if normally distributed (COV NS-NS and NS/min), were analyzed through a 1-way ANOVA for repeated measures with nCPAP condition as the independent variable. Both 1- and 2-way ANOVA for repeated measures were performed using PROC MIXED of SAS software, version 9.1. Results not normally distributed (mL/min, mL/NS, COV NS-BR, COV BR-BR and % of total NS in runs) were analyzed by Friedman's test followed by Wilcoxon signed-rank test, using GraphPad Prism software version 5.0. Differences were deemed significant if  $P < 0.05$ . In addition, given the relatively small number of studied lambs (related to both the complexity of the ovine model and ethical constraints), it was decided to give full consideration to the presence of a significant trend, defined as  $P \leq 0.1$ .

## RESULTS

### General characteristics

A sample tracing obtained in one lamb in nCPAP 10 cm H<sub>2</sub>O is shown in Figure 1.



**Figure 1:** Sample tracing obtained in one lamb during feeding with nCPAP 10 cmH<sub>2</sub>O application

ECG, electrocardiogram; TA, electrical activity of the thyroarytenoid muscle (a glottal constrictor muscle); ∫TA, integrated TA; lung volume, sum signal of the respiratory inductance plethysmograph, allowing qualitative measurement of respiration (inspiration upward); mask pressure, nasal mask pressure, allowing verification of the pressure delivered to the lamb; SpO<sub>2</sub>, oxygen hemoglobin saturation measured by pulse oximetry. Arrows indicate nutritive swallowing.

Eight lambs weighing 3.8 kg (SD 0.3) (range 3.2 – 4.0) on the day of recordings were included in the study. Although all lambs were evaluated under every nCPAP condition, technical problems prevented saturation measurements in two lambs as well as blood gases in one lamb (see below). Detailed results for RR, HR and SpO<sub>2</sub> are listed in Table 1. Neither nCPAP nor feeding had an effect on SpO<sub>2</sub>, while RR was significantly

decreased in the four conditions with nasal mask compared with the no mask condition, mostly after but also during feeding. In addition, HR was significantly increased by the four conditions with nasal mask both before and after feeding, while during feeding only nCPAP10 increased HR significantly. No significant interaction was found between nCPAP and feeding for RR ( $P = 0.8$ ), HR and SpO<sub>2</sub> ( $P = 1.0$  for both).

**Table 1: Effects of nCPAP conditions and feeding on cardiorespiratory variables**

	No mask	nCPAP0	nCPAP4	nCPAP7	nCPAP10
RR, min <sup>-1</sup>					
Before	35 (10)	37 (11)	34 (6)	32 (9)	36 (9)
During	41 (13)	39 (7)	33 (6)*	34 (8)*	38 (6)
After	45 (11) <sup>§</sup>	37 (9)*	37 (8) <sup>‡</sup>	38 (8)*	36 (7)*
HR, min <sup>-1</sup>					
Before	168 (25)	201 (31)*	199 (27)*, <sup>‡</sup>	211 (31)*	221 (38)*
During	164 (24)	183 (23) <sup>‡,a</sup>	180 (24) <sup>‡,a</sup>	184 (22) <sup>‡,§,a</sup>	205 (32)*
After	180 (25)	208 (30)*, <sup>‡</sup>	206 (32)*, <sup>‡</sup>	225 (31)*	240 (24)*
SpO <sub>2</sub> , %					
Before	99 (1)	98 (2)	98 (2)	97 (2)	98 (2)
During	97 (2)	97 (3)	97 (2)	96 (3)	98 (1)
After	98 (2)	97 (2)	98 (1)	96 (3)	98 (2)

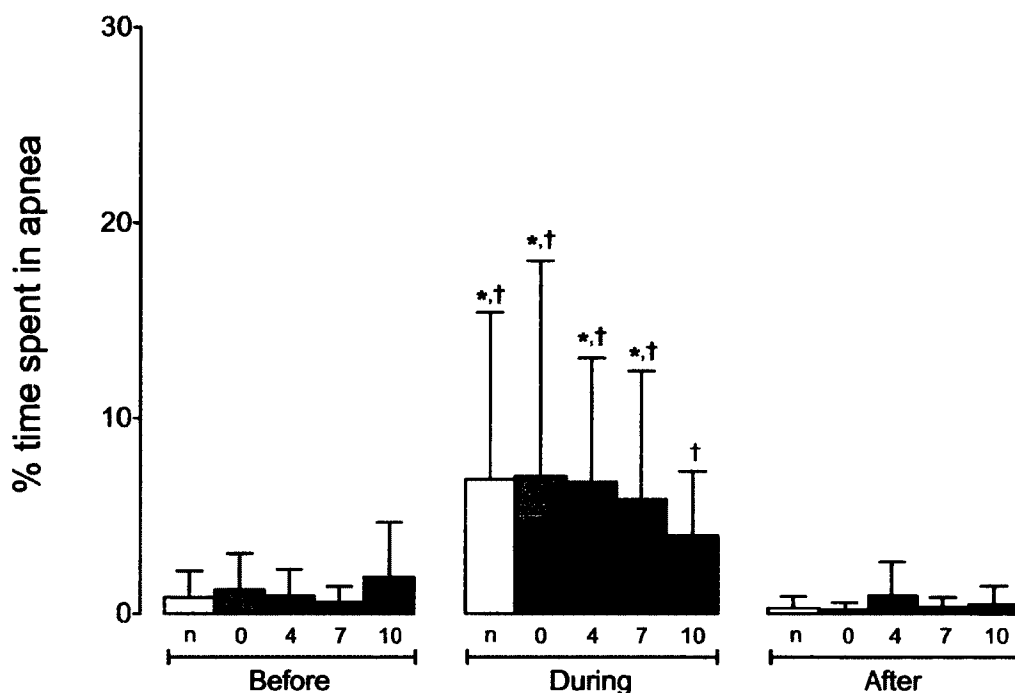
Values are expressed as mean (SD). RR, respiratory rate; HR, heart rate; SpO<sub>2</sub>, hemoglobin O<sub>2</sub> saturation; before, before feeding; during, during feeding; after, after feeding. \*: vs. no mask, §: vs. before, †: vs. nCPAP10, a: vs. after, ‡: vs. nCPAP7. Underlined symbols indicate  $P < 0.05$ , non underlined symbols indicate  $P \leq 0.1$ . All other  $P$  values are greater than 0.1.

### **Cardiorespiratory events and arterial blood gases**

The effect of nCPAP conditions and feeding on the % of time spent in apnea is shown in Figure 2. All other cardiorespiratory responses to nCPAP and feeding are detailed in Table 2. Blood gases and pH measurements are listed in Table 3. For all parameters, no significant interaction between nCPAP and feeding was found ( $P > 0.1$  for all).

### Apneas

While nCPAP had no significant effect on the frequency and the % of time spent in apnea ( $P = 1.0$  for both), feeding significantly increased both parameters in almost all nCPAP levels when compared with before and after feeding ( $P < 0.0001$  for both; see Table 2 and Figure 2 for details).



**Figure 2: Percentage of time spent in apnea in every experimental condition**

Before, before feeding; during, during feeding; after, after feeding; n, no mask condition; 0, nCPAP 0 cmH<sub>2</sub>O condition; 4, nCPAP 4 cmH<sub>2</sub>O condition; 7, nCPAP 7 cmH<sub>2</sub>O condition; 10, nCPAP 10 cmH<sub>2</sub>O condition. \* vs. before; †: vs. after. Bold symbols indicate  $P < 0.05$ , normal font symbols indicate  $P \leq 0.1$ . All other  $P$  values are greater than 0.1.

### Bradycardias and heart rate slowings

The electrocardiogram signal could not be analyzed at nCPAP 0 for one lamb, due to technical problems. Overall, only one bradycardia (i.e. lasting > 5 s) was found. It occurred during feeding in nCPAP7, lasted 10.7 s and was not associated with any apnea or desaturation. Therefore, statistical analyses were performed only for HR slowings (i.e. lasting < 5 s). There was no significant change in the frequency of HR



slowings between all nCPAP levels ( $P = 0.8$ ). However, the frequency of HR slowings was significantly increased during feeding compared with before and after, both in the no mask and nCPAP0 conditions (see Table 2 for details). Since not clinically relevant, the duration of HR slowings was not analyzed.

#### Arterial blood desaturations

Due to technical problems with the pulse oximeter probe in two lambs, saturation could only be analyzed in six of the eight lambs. SpO<sub>2</sub> fell below 80% only once, during 2 s in nCPAP7 before feeding, and was not associated with any apnea or bradycardia. Therefore, statistical analyses were performed only for SpO<sub>2</sub> < 90%. There was no significant change in the frequency of desaturations between all nCPAP levels ( $P = 0.5$ ). However, the % of time spent with SpO<sub>2</sub> < 90% was increased in nCPAP7 compared to no mask and nCPAP4 during feeding ( $P = 0.1$  for both) and compared to nCPAP4 after feeding ( $P = 0.1$ ). Feeding significantly increased the frequency of desaturations in nCPAP0 when compared to before and after feeding ( $P = 0.01$  and  $0.05$ , respectively), but had no effect on the % of time spent with SpO<sub>2</sub> < 90% ( $P = 0.5$ ).

**Table 2: Effects of nCPAP conditions and feeding on cardiorespiratory events**

	No mask	nCPAP0	nCPAP4	nCPAP7	nCPAP10
<b>Apnea frequency, min<sup>-1</sup></b>					
Before	0.1 (0.2) <sup>†</sup>	0.2 (0.2)	0.1 (0.2)	0.1 (0.1)	0.2 (0.3)
Feeding	0.7 (0.7) <sup>*†</sup>	0.5 (0.6) <sup>*‡</sup>	0.7 (0.7) <sup>*‡</sup>	0.6 (0.5) <sup>*‡</sup>	0.5 (0.5) <sup>*‡</sup>
After	0.03 (0.05)	0.04 (0.1)	0.1 (0.2)	0.05 (0.1)	0.05 (0.1)
<b>HR slowing frequency, min<sup>-1</sup></b>					
Before	0.1 (0.1)	0.2 (0.3)	0.05 (0.1)	0.1 (0.2)	0.4 (0.7)
Feeding	3 (5) <sup>*†</sup>	2 (3) <sup>*†</sup>	2 (3)	4 (7)	7 (15)
After	0.4 (0.9)	0.1 (0.1)	0.1 (0.2)	0.2 (0.3)	0.2 (0.3)
<b>Desaturation frequency, min<sup>-1</sup></b>					
Before	0	0	0	0.1 (0.2)	0.03 (0.08)
Feeding	0.04 (0.1)	0.4 (0.7) <sup>*‡</sup>	0.1 (0.3)	0.2 (0.4)	0.1 (0.2)
After	0.03 (0.05)	0.1 (0.1)	0	0.1 (0.2)	0.02 (0.04)
<b>% time spent in desaturation</b>					
Before	0	0	0	4 (9)	2 (4)
Feeding	1 (3) <sup>‡</sup>	5 (9)	1 (3) <sup>‡</sup>	7 (17)	2 (4)
After	1 (3)	4 (6)	0 <sup>‡</sup>	6 (9)	0.2 (0.5)

Values are expressed as mean (SD). †: vs. after, \*: vs. before, ‡: vs. nCPAP7. Underlined symbols indicate  $P < 0.05$ , non underlined symbols indicate  $P \leq 0.1$ . All other  $P$  values are greater than 0.1. See Table 1 for abbreviations.

### Arterial blood gases and pH

Due to technical problems with the arterial catheter in one lamb, arterial blood gases and pH could only be measured in seven lambs. There was a significant decrease in pH in nCPAP7 and nCPAP10 when compared with nCPAP0 before feeding ( $P = 0.04$  for both). Similarly, 10 minutes after feeding, pH was significantly decreased by nCPAP10 compared with nCPAP0 ( $P = 0.1$ ). However, mean pH always remained within physiological limits (see Table 3). No significant effect of nCPAP was observed on either PaO<sub>2</sub> or PaCO<sub>2</sub> ( $P = 0.5$  and  $0.9$ , respectively). Feeding had no effect on either pH, PaO<sub>2</sub> or PaCO<sub>2</sub> ( $P = 0.6$ ,  $1.0$  and  $0.2$ , respectively).

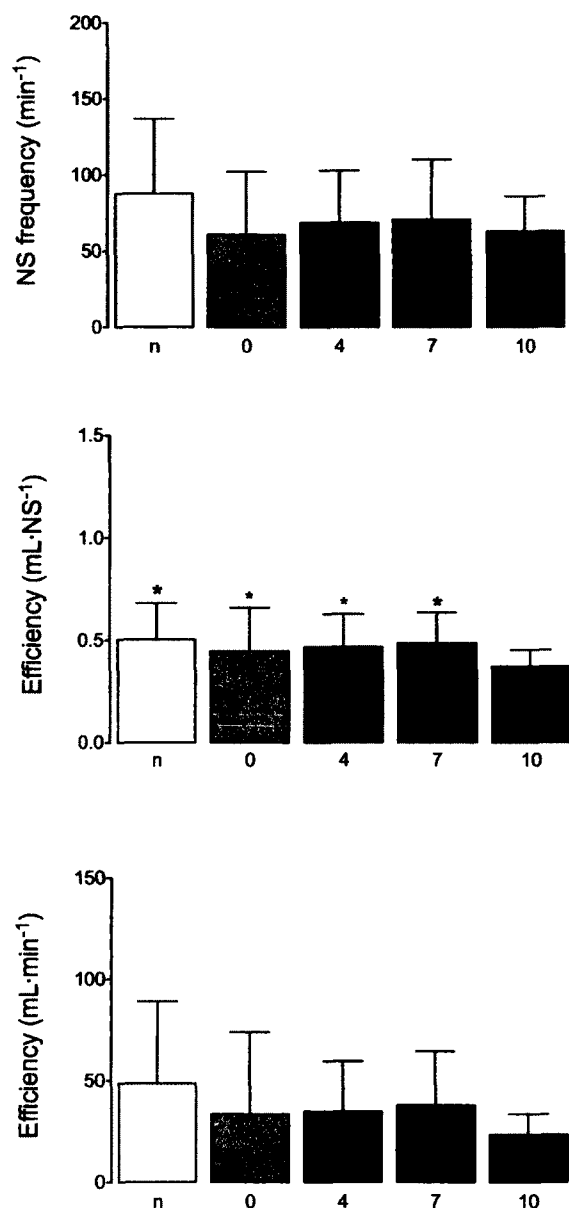
In summary, nCPAP had no systematic effect on cardiorespiratory responses and blood gases. Similarly, feeding had no clear effect on all variables with the exception of apneas, for which feeding systematically increased frequency and % of time spent in apnea.

**Table 3: Effects of nCPAP conditions and feeding on arterial blood gases and pH**

	No mask	nCPAP0	nCPAP4	nCPAP7	nCPAP10
<b>PaO<sub>2</sub>, Torr</b>					
Before	85 (12)	92 (11)	93 (12)	91 (4)	88 (9)
0 after	87 (17)	89 (10)	91 (10)	88 (19)	92 (8)
5 after	86 (18)	89 (12)	89 (15)	88 (19)	91 (8)
10 after	84 (15)	91 (17)	90 (13)	88 (13)	93 (11)
<b>PaCO<sub>2</sub>, Torr</b>					
Before	43 (3)	43 (4)	42 (2)	43 (2)	43 (5)
0 after	40 (5)	40 (5)	41 (3)	42 (2)	42 (4)
5 after	42 (4)	41 (4)	42 (2)	41 (3)	41 (5)
10 after	42 (3)	42 (3)	40 (2)	40 (3)	42 (7)
<b>pH</b>					
Before	7.44 (0.05)	7.45 (0.04)	7.42 (0.04)	7.41 (0.02)*	7.41 (0.03)*
0 after	7.41 (0.02)	7.42 (0.02)	7.41 (0.04)	7.41 (0.02)	7.41 (0.03)
5 after	7.43 (0.03)	7.43 (0.03)	7.41 (0.04)	7.41 (0.02)	7.41 (0.03)
10 after	7.43 (0.04)	7.43 (0.02)	7.41 (0.04)	7.42 (0.02)	7.41 (0.03)*

Values are expressed as mean (SD). Before, before feeding; 0 after, immediately after feeding; 5 after, 5 minutes after feeding; 10 after, 10 minutes after feeding. \*: vs. nCPAP0. Underlined symbols indicate  $P < 0.05$ , non underlined symbols indicate  $P \leq 0.1$ . All other  $P$  values are greater than 0.1.

### Feeding efficiency



The effects of nCPAP on feeding efficiency are listed in Table 4 and illustrated in Figure 3. There were no significant changes in total NS frequency and percentage of total NS in runs for all nCPAP levels ( $P = 0.6$  and  $0.2$ , respectively). Similarly, the stability of NS rhythm (COV of NS-NS interval) and the mL/min ratio were not disturbed in any nCPAP level ( $P = 0.9$  and  $0.3$ , respectively). Nevertheless, when compared with every other condition, nCPAP10 significantly decreased the mL/NS ratio (see Figure 3 middle panel for details).

In summary, nCPAP had no effect on feeding efficiency except for a significant decrease of the mL/NS ratio by nCPAP10 when compared with all the other conditions.

**Figure 3: Feeding efficiency (NS frequency, mL/NS and mL/min) during each nCPAP condition**

\*: vs. nCPAP 10 cmH<sub>2</sub>O condition. Bold symbols indicate  $P < 0.05$ , normal font symbols indicate  $P \leq 0.1$ . All other  $P$  values are greater than 0.1. See Figure 2 for abbreviations.

**Table 4: Effects of nCPAP conditions on feeding efficiency and nutritive swallowing-breathing coordination**

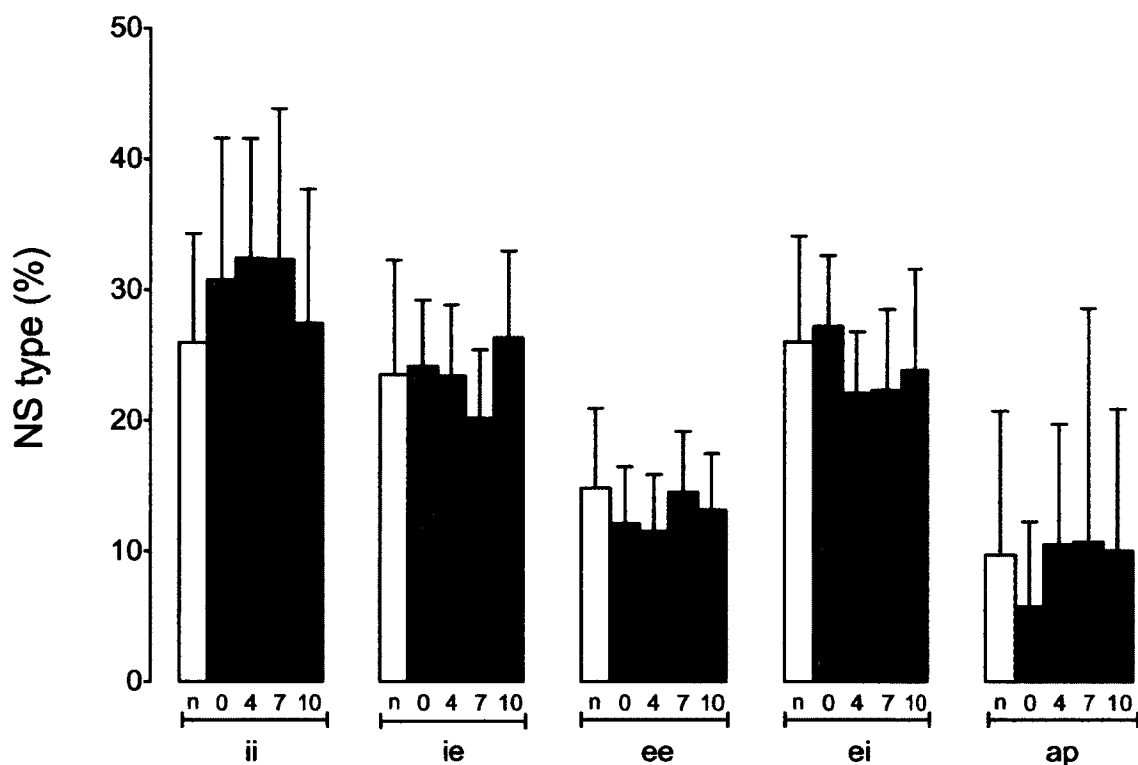
	No mask	nCPAP0	nCPAP4	nCPAP7	nCPAP10
<b>Feeding efficiency</b>					
% of NS in runs	96 (6)	86 (19)	95 (7)	93 (13)	97 (3)
COV NS-NS	0.5 (0.1)	0.5 (0.1)	0.4 (0.1)	0.5 (0.05)	0.5 (0.1)
<b>Nutritive swallowing-breathing coordination</b>					
COV NS-BR	0.7 (0.2)	0.7 (0.2)	0.7 (0.1)	0.7 (0.1)	0.7 (0.1)
COV BR-BR	0.5 (0.2)	0.4 (0.2)	0.5 (0.2)	0.5 (0.3)	0.4 (0.1)

Values are expressed as mean (SD). NS, nutritive swallowing; COV NS-NS, coefficient of variation of NS-NS intervals; COV NS-BR, COV of NS-breath intervals; COV BR-BR, COV of BR-BR intervals. All *P* values are greater than 0.1.

#### **Coordination between nutritive swallowing and phases of the respiratory cycle**

The effects of nCPAP on NS-BR coordination are reported in Table 4 and Figure 4. Overall, NS-BR coordination was similar for all conditions. The COV of NS-BR interval did not differ between nCPAP levels ( $P = 0.9$ ) and neither did the COV of BR-BR interval ( $P = 0.4$ ). Similarly, no statistical differences were observed when the percentage of each NS type was compared among all nCPAP conditions ( $P = 1.0$ ). Distribution of NS-types was similar between conditions, with ii-, ie- and ei-type NS significantly more frequent than both ee- and ap-type NS in almost all conditions (see Figure 4).

In summary, nCPAP had no significant effect on NS-BR coordination. In addition, although some NS-types were more frequent than others, NS could occur at any moment in the respiratory cycle.



**Figure 4: nCPAP does not modify nutritive swallowing-breathing coordination**

ii, NS preceded and followed by inspiration; ie, NS at the transition from inspiration to expiration; ee, NS preceded and followed by expiration; ei, NS at the transition from expiration to inspiration; ap, NS occurring during an apnea. No statistical differences were observed between each NS type when compared among all nCPAP conditions ( $P = 1.0$ ). Thus, nCPAP did not modify nutritive swallowing-breathing coordination. While NS could occur at any moment in the respiratory cycle, some NS-types were more frequent than others, with ii, ie and ei-types NS significantly more frequent than both ee and ap-type NS in almost all conditions. For reason of clarity, these significant interactions are not shown in figure 4, as these results are not part of the main objective of the present study. See Figure 2 for other abbreviations.

## **DISCUSSION**

### **Statement of principal findings**

The present study provides a first and unique insight on the effects of nasal continuous positive airway pressure on bottle-feeding in the newborn full-term lamb. Overall, our findings reveal that application of nCPAP in the full-term lamb has no deleterious effects on both the safety and efficiency of bottle-feeding, aside from a decreased efficiency with the highest nCPAP value (nCPAP10). In addition, our results show that nutritive-breathing coordination is not altered by nCPAP.

### **Safety of bottle-feeding during nCPAP**

Nasal CPAP has been previously reported to induce dilatation of laryngeal opening in preterm infants (9). On this basis, several neonatology teams are reluctant to initiate oral feeding in infants receiving nCPAP (23), probably fearing the cardiorespiratory consequences of triggering laryngeal chemoreflexes due to increased laryngeal penetration of milk. On one hand, previous results from our laboratory showing severe cardiorespiratory events in preterm lambs during laryngeal chemoreflexes triggered by milk during spontaneous room air breathing may be seen as giving support to these fears (37). On the other hand however, very recent unpublished observations by our group in preterm lambs that nCPAP (6 cmH<sub>2</sub>O) efficiently prevents these severe events justify further studies aiming at delineating the conditions where feeding can be attempted in newborns with nCPAP.

In the present study, both the frequency and the % of time spent in apnea were significantly increased during feeding compared to the pre-feeding, baseline period in every experimental condition, including the no mask condition. This result is not surprising given that apneas due to bursts of NS are frequently observed both in term and preterm infants (13, 15, 16), owing to the normal inhibition of the respiratory central pattern generator (CPG) induced by NS (19). Moreover, the fact that there was no significant change in blood gases/pH, apneas or heart rate slowing when comparing all five conditions suggests that the application of nCPAP itself did not cause any increase in laryngeal penetrations or tracheal aspirations. The slight, albeit significant increase in

% of time spent with  $\text{SpO}_2 < 90\%$  during nCPAP7 might be interpreted, in the absence of any increase in apnea, as due to a decreased tidal volume. However, such interpretation appears unlikely since nCPAP10 had no such effect.

The observation of an increased HR with the nasal mask is also noticeable. The presence of an increase in all mask conditions compared to the no mask condition suggests that it may be related to behavioral influence via increased sympathetic tone or to trigeminal stimulation, as reported in term infants (41). Previous results from our laboratory showing no difference in HR between nCPAP6 and nCPAP0 support the fact that the nasal mask itself is mostly responsible for the increase in HR in the present study (31). However, the significant increase in HR during feeding in nCPAP10 may be due to a sympathetic response to decreased venous return at this high nCPAP level, in an effort to maintain a normal cardiac flow (18). Nevertheless, the effects of the application of the mask and nCPAP were overall of little importance since they did not affect cardio-respiratory events.

### **Feeding efficiency during nCPAP**

Various clinical conditions, such as post-menstrual age (21), intrauterine drug exposure (11), bronchopulmonary dysplasia (10) and acute viral bronchiolitis of infancy (26) have been shown to affect feeding efficiency, as measured by either mL/NS, % of total NS in runs, NS frequency or COV of NS-NS interval. However, results of the present study indicate that nCPAP has no effect on feeding efficiency. The only notable exception is the application of nCPAP 10  $\text{cmH}_2\text{O}$ , which significantly decreased the mL/NS ratio and appeared to have a similar although non-significant effect on the mL/min ratio.

Previous studies from our group showed an inhibiting effect of nCPAP on non-nutritive swallowing (NNS) in newborn lambs during quiet sleep, mediated by stimulation of both bronchopulmonary and upper airway receptors (33, 34). In addition, continuous lung inflation prompted by application of negative extrathoracic pressure in awake adult humans was also shown to inhibit water-triggered swallows (14). In the present study, NS frequency was not significantly altered under any nCPAP condition. We are unable to explain at this time the apparent discrepancy between the two above-quoted studies and the present study.



Overall, nCPAP 10 cmH<sub>2</sub>O was the only condition to have a slight deleterious effect on feeding efficiency, a fact that has however little clinical impact since this level of nCPAP is rarely used in neonates (30).

### **Effect of nCPAP on nutritive swallowing-breathing coordination**

Nutritive swallowing-breathing coordination is crucial for minimizing the risk of aspiration and the consequent deleterious cardiorespiratory events. Our previous studies (33, 34) revealed that nCPAP had no systematic effect on NNS-breathing coordination in full-term lambs. Similarly, the present study indicates that nCPAP has no effect on NS-breathing coordination in full-term lambs. Overall, the coordination of breathing and NNS as well as NS appears to be largely unaltered by various conditions such as preterm birth (28), hypoxia (8), nCPAP and nasal intermittent positive pressure ventilation (33, 34). Furthermore, the present results suggest that stimulation of positive pressure receptors in the upper airways by nCPAP, in likelihood with upper airway dilation, do not significantly alter NS in the neonatal period, including NS-breathing coordination. Finally, it appears that the nCPAP-associated stimulation of bronchopulmonary receptors, especially stretch receptors, probably together with an increased functional residual capacity, do not significantly alter NS in the neonatal period, including NS-breathing coordination.

### **Clinical implications and limitations of our study**

Our observation in the present study that clinically relevant levels of nCPAP do not have deleterious consequences on the safety and efficacy of bottle-feeding, as well as on swallowing-breathing coordination, may be considered reassuring for those advocating for initiation of oral feeding despite the presence of nCPAP (4, 6). Moreover, we used a custom-made nasal mask, which is clearly heavier and more cumbersome than the nasal interfaces currently in use in human newborns. However, our results are obviously limited by the fact they were obtained in the healthy, full-term lamb. Different results might be obtained in preterm sick human infants, since prematurity and altered lung function tend to interfere with normal control of feeding (7, 20). Therefore, our present

observations have to be considered as a first, albeit necessary, step towards the acquisition of a better knowledge of the relationships between nCPAP and oral feeding in the neonatal period. Further experiments will need to address the effect of nCPAP in preterm lambs, including with respiratory problems mimicking bronchopulmonary dysplasia, before contemplating a knowledge transfer to a clinical trial in the neonatal intensive care unit.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors gratefully acknowledge the expert technical assistance of Jean-Philippe Gagné and the statistical advice of Julie Hamon and Nathalie Carrier. The study was supported by grants from the Canadian Institutes for Health Research, the Canadian Foundation for Innovation and the Foundation of Stars (Quebec) allocated to J-P Praud. A Bernier is a MD-MSc scholar of the Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ). Jean-Paul Praud is a member of the FRSQ-funded Clinical Research Center Étienne-Le Bel, Sherbrooke University Hospital, and the holder of the Canada Research Chair in Neonatal Respiratory Physiology.

### **Contributions of authors**

Anne Bernier: design of the study, surgical instrumentation, postoperative animal care, recordings, analyses, manuscript writing

Céline Catelin: design of the study, manuscript writing

Mohamed Amine Hadj Ahmed: postoperative animal care, recordings

Nathalie Samson: surgical instrumentation, recordings, analyses, manuscript writing

Pauline Bonneau: analyses of the results

Jean-Paul Praud: design of the study, analyses, manuscript writing

## REFERENCES

1. **Amaizu N, Shulman RJ, Schanler RJ, Lau C.** Maturation of oral feeding skills in preterm infants. *Acta Paediatr* 97: 61–67, 2008.
2. **Andritsch RF, Muravchick S, Gold MI.** Temperature correction of arterial blood-gas parameters: A comparative review of methodology. *Anesthesiology* 55: 311–316, 1981.
3. **Barlow SM.** Oral and respiratory control for preterm feeding. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 17: 179–186, 2009.
4. **Bonner KM, Mainous RO.** The nursing care of the infant receiving bubble CPAP therapy. *Adv Neonat Care* 8: 78–95, 2008.
5. **Carreau AM, Patural H, Samson N, Doueik AA, Hamon J, Fortier PH, Praud J-P.** Effects of simulated reflux laryngitis on laryngeal chemoreflexes in newborn lambs. *J Appl Physiol* 111: 400–406, 2011.
6. **de Klerk R.** Nasal Prong Continuous Positive Airway Pressure: A Practical Guide. New York: Children's Hospital of New York, 2004.
7. **Delaney AL, Arvedson JC.** Development of swallowing and feeding: prenatal through first year of life. *Dev Disabil Res Rev* 14, 105–117, 2008.
8. **Duvareille C, Lafrance M, Samson N, St-Hilaire M, Pladys P, Micheau P, Bournival V, Langlois C, Praud J-P.** Effects of hypoxia and hypercapnia on non-nutritive swallowing-breathing coordination in lambs. *J Appl Physiol* 103: 1180–1188, 2007.
9. **Gaon P, Lee S, Hannan S, Ingram D, Milner AD.** Assessment of effect of nasal continuous positive pressure on laryngeal opening using fibre optic laryngoscopy. *Arch Dis Child* 80: F230–F232, 1999.
10. **Gewolb IH, Bosma JF, Taciak VL, Vice FL.** Abnormal developmental patterns of suck and swallow rhythms during feeding in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. *Dev Med Child Neurol* 43: 454–459, 2001.
11. **Gewolb IH, Fishman D, Qureshi MA, Vice FL.** Coordination of suck-swallow-respiration in infants born to mothers with drug-abuse problems. *Dev Med Child Neurol* 46: 700–705, 2004.
12. **Gewolb IH, Vice FL, Schwietzer-Kenney EL, Taciak VL, Bosma JF.** Developmental patterns of rhythmic suck and swallow in preterm infants. *Dev Med Child Neurol* 43: 22–27, 2001.
13. **Hanlon MB, Tripp JH, Ellis RE, Flack FC, Selley WG, Shoesmith HJ.** Deglutition apnoea as indicator of maturation of suckle feeding in bottle-fed preterm infants. *Dev Med Child Neurol* 39: 534–542, 1997.
14. **Kijima M, Isono S, Nishino T.** Modulation of swallowing reflex by lung volume changes. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 1855–1858, 2000.

15. **Koenig JS, Davies AM, Thach BT.** Coordination of breathing, sucking, and swallowing during bottle feedings in human infants. *J Appl Physiol* 69: 1623-1629, 1990.
16. **Lau C, Smith EO, Schanler RJ.** Coordination of suck-swallow and swallow respiration in preterm infants. *Acta Paediatrica* 92: 721-727, 2003.
17. **Mahmoud RA, Roehr CC, Schmalisch G.** Current methods of non-invasive ventilatory support for neonates. *Paediatr Respir Rev* 12: 196-205, 2011.
18. **Marquez JM, Douglas ME, Downs JB, Wu WH, Mantini EL, Kuck EJ, Calderwood HW.** Renal function and cardiovascular responses during positive airway pressure. *Anesthesiology* 50: 393-398, 1979.
19. **Martin-Harris B.** Coordination of respiration and swallowing. In Shaker and Goyal GI Motility online-Part 1 Oral cavity, pharynx and esophagus (Goyal R, R. S eds.), vol. 2008. pp. web page. London: Nature Publishing Group; 2006: [<http://www.nature.com/gimo/contents/pt1/full/gimo10.html>]
20. **Miller MJ, Kiatchoosakun P.** Relationship between respiratory control and feeding in the developing infant. *Semin Neonatol* 9: 221–227, 2004.
21. **Mizuno K, Ueda A.** The maturation and coordination of sucking, swallowing, and respiration in preterm infants. *J Pediatr* 142: 36–40, 2003.
22. **Morley CJ, Davis PG.** Continuous positive airway pressure: Scientific and clinical rationale. *Curr Opin Pediatr* 20:119–124, 2008.
23. **Nyqvist KH.** Early attainment of breastfeeding competence in very preterm infants. *Acta Paediatr* 97: 776–781, 2008.
24. **Pickler RH, Chiaranai C, Reyna BA.** Relationship of the first suck burst to feeding outcomes in preterm infants. *J Perinat Neonatal Nurs* 20: 157–162, 2006.
25. **Pinelli J, Symington A.** Non-nutritive sucking for promoting physiologic stability and nutrition in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD001071, 2005.
26. **Pinnington LL, Smith CM, Ellis RE, Morton RE.** Feeding efficiency and respiratory integration in infants with acute viral bronchiolitis. *J Pediatr* 137: 523–526, 2000.
27. **Praud J-P.** Upper airway reflexes in response to gastric reflux. *Paediatr Respir Rev* 11: 208-212, 2010.
28. **Reix P, Arsenault J, Langlois C, Niyonsenga T, Praud J-P.** Non-nutritive swallowing and respiration coordination in preterm lambs *J Appl Physiol* 97: 1283-1290, 2004.
29. **Reix P, Fortier PH, Niyonsenga T, Arsenault J, Letourneau P, Praud J-P.** Non-nutritive swallowing and respiration coordination in full-term newborn lambs. *Respir Physiol Neurobiol* 134: 209–218, 2003.
30. **Roehr CC, Schmalisch G, Khakban A, Proquitte H, Wauer RR.** Use of continuous positive airway pressure (CPAP) in neonatal units—a survey of current preferences and practice in Germany. *Eur J Med Res* 12: 139–144, 2007.

31. **Samson N, Beuchée A, Carrault G, Pladys P, Senhadji L, Praud J-P.** Nasal CPAP and inspiratory pressure support have no effect on heart rate variability in healthy lambs during quiet wakefulness and quiet sleep. *Acta Paediatrica* 96: S456, 174, 2007.
32. **Samson N, Dumont S, Specq ML, Praud J-P.** Radio telemetry devices to monitor breathing in non-sedated animals. *Respir Physiol Neurobiol* 179: 111-118, 2011.
33. **Samson N, Roy B, Ouimet A, Moreau-Bussiere F, Dorion D, Mayer S, Praud J-P.** Origins of the inhibiting effects of nasal CPAP on nonnutritive swallowing in newborn lambs. *J Appl Physiol* 105: 1083–1090, 2008.
34. **Samson N, St-Hilaire M, Nsegbe E, Reix P, Moreau-Bussiere F, Praud J-P.** Effect of nasal continuous or intermittent positive airway pressure on nonnutritive swallowing in the newborn lamb. *J Appl Physiol* 99: 1636–1642, 2005.
35. **Simpson C, Schanler RJ, Lau C.** Early Introduction of Oral Feeding in Preterm Infants. *Pediatrics* 110: 517–522, 2002.
36. **St-Hilaire M, Nsegbe E, Gagnon-Gervais K, Samson N, Moreau-Bussiere F, Fortier PH, Praud J-P.** Laryngeal chemoreflexes induced by acid, water, and saline in non-sedated newborn lambs during quiet sleep. *J Appl Physiol* 98: 2197–2203, 2005.
37. **St-Hilaire M, Samson N, Nsegbe E, Duvareille C, Moreau-Bussière F, Micheau P, Lebon J, Praud J-P.** Postnatal maturation of laryngeal chemoreflexes in the preterm lamb. *J Appl Physiol* 102: 1429-1438, 2007.
38. **Thach BT.** Some aspects of clinical relevance in the maturation of respiratory reflexes in infants. *J Appl Physiol* 104: 1828-1834, 2008.
39. **Thomas JA.** Guidelines for bottle feeding your premature baby. *Adv Neonatal Care* 7: 311–318, 2007.
40. **Thoyre SM.** Feeding outcomes of extremely premature infants after neonatal care. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 36: 366-375, 2007.
41. **Tuladhar R, Harding R, Michael Adamson T, Horne RS.** Comparison of postnatal development of heart rate responses to trigeminal stimulation in sleeping preterm and term infants. *J Sleep Res* 14: 29-36, 2005.
42. **White-Traut RC, Berbaum ML, Lessen B, McFarlin B, Cardenas L.** Feeding readiness in preterm infants: the relationship between preterm behavioral state and feeding readiness behaviors and efficiency during transition from gavage to oral feeding. *MCN Am J Matern Child Nurs* 30: 52–59, 2005.

## **DISCUSSION**

### **Événements cardio-respiratoires**

L'évaluation des événements cardio-respiratoires était primordiale pour cette étude, puisqu'ils sont des indices à court terme de la survenue d'aspirations trachéales; ils nous renseignent donc sur la sécurité de la PPC durant l'alimentation. Les résultats présentés ont montré que la PPC n'a pas eu d'effet sur les apnées ni les bradycardies, et qu'elle n'a eu qu'une influence minime sur les désaturations. En effet, seule une légère augmentation du % de temps passé en désaturation a été observée, et seulement en PPC7; aucun changement dans les désaturations n'a été trouvé entre les autres niveaux de PPC. À ce jour, nous n'avons pas d'explication satisfaisante pour cette diminution, puisqu'elle ne s'est pas reproduite en PPC10. Accessoirement, la survenue d'événements cardio-respiratoires entre les trois différentes périodes relatives au biberon (avant, pendant ou après) a également été évaluée. L'alimentation a montré un effet notable sur les apnées, qui ont été augmentées tant en fréquence qu'en % de temps dans tous les niveaux de PPC. Cette découverte n'est toutefois pas surprenante puisque comme il l'a été abordé en introduction, la déglutition entraîne inévitablement une pause respiratoire (Mistry et Hamdy, 2008; Martin-Harris, 2006), qui peut être plus ou moins prolongée selon la maturité de la coordination DN-respiration du sujet. Il est en effet connu que les prématurés tendent à déglutir en apnée, protégeant ainsi leurs voies respiratoires inférieures de pénétration de nourriture, aux dépens d'une ventilation adéquate (Hanlon *et al.*, 1997; Lau *et al.*, 2003; Mizuno et Ueda, 2003; Gewolb et Vice, 2006). De ces résultats, on retient donc que la PPC n'a pas montré d'effet délétère sur les événements cardio-respiratoires pendant ou après le biberon, suggérant sa non nocivité en association avec l'alimentation.

L'effet du masque nasal seul a également été évalué, puisque l'utilisation d'une PPC est inhérente à sa mise en place. Il semble que le masque n'ait eu un effet que sur la fréquence cardiaque, qui a été significativement augmentée dans toutes les conditions avec masque, incluant la PPC0. Il s'agit donc probablement d'une influence comportementale, c'est-à-dire une augmentation du tonus sympathique secondaire à l'anxiété générée par la mise en place du masque, avec une contribution probable de la stimulation du nerf trijumeau, comme il l'a été rapporté chez les nouveau-nés à terme

(Tuladhar *et al.*, 2005). Il importe toutefois de rappeler que le masque conçu pour les agneaux (Samson *et al.*, 2005) est beaucoup plus lourd et contraignant que celui utilisé chez les nouveau-nés humains; il est donc raisonnable de croire que l'effet du masque nasal utilisé en clinique est moins important. La PPC10 a également engendré une augmentation de la fréquence cardiaque, possiblement de manière à conserver un bon débit cardiaque malgré une diminution du retour veineux secondaire à la forte pression intra-thoracique (Marquez *et al.*, 1979).

### **Efficacité de l'alimentation**

L'efficacité de l'alimentation, appréciée par différentes variables incluant le nombre de DN, la durée d'un biberon et la quantité de lait bue par l'agneau, n'a pas subi de modification systématique par la PPC. Une seule valeur a été altérée, soit le rapport mL de lait/DN, qui a diminué en PPC10. Bien que cette baisse d'efficacité ne soit pas à négliger, elle est à notre avis de faible importance clinique, la PPC10 n'étant utilisée que rarement chez le nouveau-né (Roehr *et al.*, 2007). De plus, rappelons que la motivation derrière cette étude est de pouvoir ultimement initier l'alimentation orale chez des nouveau-nés bénéficiant d'une PPC; dans cette optique, l'efficacité de l'alimentation n'est pas primordiale puisque les besoins nutritionnels non comblés par l'alimentation orale pourront l'être par l'alimentation entérale. Il est intéressant toutefois de mentionner que ces résultats divergent d'études antérieures (Kijima *et al.*, 2000; Samson *et al.*, 2005; Samson *et al.*, 2008) qui avaient montré une diminution de la fréquence des DNN (spontanées ou induites) avec la PPC, par le biais des récepteurs bronchopulmonaires. L'hypothèse actuelle pour expliquer que cette diminution n'ait pas été trouvée avec les DN suppose que les réflexes inhibiteurs de la DNN déclenchés par la stimulation des récepteurs bronchopulmonaires par la PPC ne seraient plus opérationnels en situation d'alimentation orale, contexte où la déglutition doit se faire de façon répétée et à haute fréquence. L'effet des stades de veille-sommeil (l'éveil étant nécessaire pour la DN alors que la DNN peut aussi se faire à l'état de sommeil) joue peut-être également un rôle dans cette différence des réflexes inhibiteurs, ce qui demeure toutefois à élucider.



### **Coordination DN-respiration**

La coordination entre la DN et la respiration est nécessaire à l'optimisation de la sécurité de l'alimentation. Aucune différence dans cette coordination n'a été observée entre les différents niveaux de PPC, que ce soit par l'analyse qualitative ou quantitative. Bien que le laboratoire ait évalué la coordination déglutition-respiration à plusieurs reprises par le passé, la présente étude est la première à s'intéresser aux DN plutôt qu'aux DNN; ainsi, la comparaison avec les études antérieures est difficile. Néanmoins, les résultats de la coordination DN-respiration semblent être en accord avec deux études précédentes du laboratoire, qui avaient trouvé que la PPC n'avait pas d'effet sur la coordination entre la DNN et la respiration (Samson *et al.*, 2005; Samson *et al.*, 2008). Les études antérieures de notre équipe avaient également montré que la coordination DNN-respiration est très robuste chez l'agneau, n'étant pas modifiée par différentes conditions testées en laboratoire, telles que la prématurité (Reix *et al.*, 2004), l'hypoxie (Duvareille *et al.*, 2007), et la laryngite de reflux (Brisebois *et al.*, 2010); pour l'instant, cela semble être le cas pour la coordination DN-respiration également.

### **Pertinence clinique**

L'absence de données concernant l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale s'avère un obstacle à l'introduction précoce à ce type d'alimentation chez plusieurs nouveau-nés prématurés, la pratique actuelle étant plutôt d'attendre le sevrage de la PPC avant d'initier l'alimentation orale (Nyqvist, 2008). Les découvertes de cette étude revêtent donc une grande importance clinique, puisqu'elles représentent une amorce de réponse à un manque à combler dans la littérature. De plus, le fait que la PPC n'ait pas montré d'effet néfaste sur l'alimentation orale des agneaux vient appuyer les équipes qui ont déjà intégré l'alimentation orale sous PPC à leur pratique (Bonner et Malnous, 2008; de Klerk, 2004). Les résultats les plus intéressants pour le clinicien sont certainement ceux des événements cardio-respiratoires (qui n'ont pas subi de modification significative par la PPC) prouvant indirectement qu'il n'y a pas eu d'augmentation des pénétrations laryngées ou aspirations trachéales avec la PPC, l'une des principales craintes des néonatalogistes. La répétition de résultats similaires dans

de futures études plus près du modèle clinique sera toutefois nécessaire afin d'amener une preuve plus ferme de la non nocivité de cette pratique.

### **Limitations de l'étude**

Cette étude est, à notre connaissance, la première à s'intéresser à l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale; par conséquent, elle contient certaines limitations à ne pas négliger. Tout d'abord, les expériences n'ont été menées que chez des agneaux nés à terme et «en santé», alors que ce sont généralement les nouveau-nés prématurés qui nécessiteront l'aide respiratoire d'une PPC, et ce pour pallier à la présence de certaines pathologies telles que les apnées de prématurité ou la dysplasie bronchopulmonaire (Mahmoud *et al.*, 2011; Chowdhury *et al.*, 2011). Puisque les centres de contrôle de la déglutition et de la respiration seront moins matures, il se peut que des résultats différents soient trouvés lorsque les expérimentations seront faites sur un modèle d'agneau prématuré et/ou avec anomalies de la mécanique respiratoire ou des gaz du sang. Ainsi, deux grandes différences sont possibles chez ces agneaux prématurés ou malades: la PPC pourrait certes ajouter un degré de difficulté additionnel à l'alimentation, mais il est intéressant de noter qu'elle pourrait également rendre l'alimentation orale plus aisée, par son effet bénéfique sur la régulation de la respiration. Une autre limitation de cette étude est l'application de la PPC qui ne s'est faite que de façon aiguë, ne nous permettant pas d'évaluer les conséquences d'une exposition plus chronique, comme c'est le cas en clinique où les nouveau-nés sont souvent soumis à une PPC durant plusieurs jours/semaines (Mahmoud *et al.*, 2011). Finalement, l'instrumentation aurait pu être complétée pour évaluer notamment la toux et la présence de lait sous les cordes vocales, ce qui aurait permis de mieux objectiver les aspirations de lait dans les voies respiratoires inférieures. Il est par contre à noter que bien que très intéressante pour compléter l'étude, cette dernière donnée aurait nécessité un appareillage plus complexe et ne nous aurait pas renseigné sur la signification clinique des microaspirations objectivées. Ces limitations sont toutefois considérées inhérentes au fait qu'il s'agit d'une première étude en la matière, et seront peu à peu comblées par les études futures.

### **Perspectives de l'étude**

Les prochaines études du laboratoire faisant suite à ce travail verront à se rapprocher de plus en plus de la problématique clinique ayant inspiré ce projet. Une grande avancée vers la réponse à cette problématique sera la mise en place d'un projet analogue à celui de la présente étude, donc évaluant l'effet d'une PPC sur l'alimentation orale, mais cette fois-ci chez le nouveau-né prématuré humain. Toutefois, puisque la méthodologie de ce dernier projet se devra d'être beaucoup moins invasive que ce qui se fait chez l'animal, certains paramètres ne pourront être évalués, justifiant la pertinence de continuer les études en parallèle sur le modèle ovin en complétant au besoin l'instrumentation pour évaluer la toux et la présence de lait sous les cordes vocales. Ainsi, une méthodologie similaire sera expérimentée sur un modèle d'agneau prématuré déjà bien caractérisé par notre laboratoire. De plus, des analyses semblables à celles effectuées dans cette étude seront éventuellement menées chez des modèles ovins mimant différentes anomalies de la mécanique respiratoire retrouvées en clinique, telles que l'augmentation de la résistance bronchique (par provocation à la métacholine ou autre agent bronchoconstricteur), et des anomalies des échanges gazeux, soit l'hypoxie et/ou l'hypercapnie.

## **CONCLUSION**

Cette étude démontre pour la première fois que, globalement, l'alimentation orale n'est pas modifiée par l'application d'une PPC nasale chez l'agneau nouveau-né. En effet, des analyses poussées ont permis d'évaluer la sécurité de l'alimentation, son efficacité et sa physiologie fine sous PPC, et aucune modification systématique n'a été trouvée. Cette découverte revêt une grande importance en néonatalogie, puisque les évidences portent à croire que l'initiation précoce à l'alimentation orale favoriserait l'apprentissage de l'oralité chez les nouveau-nés sous PPC. Bien que ces résultats ne permettent pas encore d'extrapoler à la problématique clinique, et donc ne répondent pas à la question «est-il sécuritaire de débiter l'alimentation orale chez un nouveau-né humain lorsqu'il est sous PPC?», ils constituent certainement un encouragement à poursuivre la recherche à ce sujet par de futures études toujours plus fines et plus près de la situation clinique.

## **REMERCIEMENTS**

Mes remerciements vont en premier lieu à mes directeurs de recherche, **Dr Jean-Paul Praud** et **Dre Céline Catelin**, pour m'avoir donné l'opportunité de mener à terme ce projet d'un grand intérêt et m'avoir offert un soutien constant durant ces deux dernières années.

Je remercie également **Dr Alain Frigon** et **Dr Arnaud Gagneur**, membres du jury, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je suis extrêmement reconnaissante aussi envers **Dre Nathalie Samson**, pour son assistance précieuse dans chacune des étapes du projet et sa constante disponibilité lorsque la charge de travail devenait plus lourde.

Un grand merci également à **Jean-Philippe Gagné**, technicien de recherche, pour ses efforts soutenus afin de simplifier et faciliter les expérimentations et à mmes **Julie Hamon** et **Nathalie Carrier** pour leur excellent avis statistique.

Je n'oublie pas non plus tous les étudiants qui m'ont aidé dans ce projet, notamment **Mohamed Amine Hadj-Ahmed**, pour sa présence à chacune des expérimentations et **Pauline Bonneau** pour sa contribution aux analyses des données. Une pensée aussi pour **Nadia Boudaa** et **Marie-Laure Specq**, qui m'ont apporté un soutien moral bien apprécié.

Finalement, comme je l'ai fait tout au long de mon projet, je termine en remerciant tous les agneaux qui ont été inclus dans ces expérimentations; rien de tout ce qui a été présenté ici n'aurait été possible sans eux.

## LISTE DES PUBLICATIONS

1. **Amaizu N, Shulman RJ, Schanler RJ, Lau C.** Maturation of oral feeding skills in preterm infants. *Acta Paediatr* 97: 61–67 (2008).
2. **Barlow SM.** Oral and respiratory control for preterm feeding. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 17: 179–186 (2009).
3. **Bonner KM, Mainous RO.** The nursing care of the infant receiving bubble CPAP therapy. *Adv Neonat Care* 8: 78–95 (2008).
4. **Boumeqid H, Rakza T, Abazine A, Klosowski S, Matran R, Storme L.** Influence of three nasal continuous positive airway pressure devices on breathing pattern in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 92, F298–300 (2007).
5. **Brisebois S, Samson N, Fortier P-H, Doueik A, Carreau A-M, Gagne J-P, Praud J-P.** Effects of reflux laryngitis on non-nutritive swallowing in newborn lambs. *Am J Crit Care Respir Med*, 181: A2441 (2010).
6. **Car A, Jean A, Roman C.** Deglutition: physiologic and neurophysiologic aspects. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 119, 219–225 (1998).
7. **Chowdhury O, Wedderburn CJ, Duffy D, Greenough A.** CPAP review. *Eur J Pediatr* (2011).
8. **de Klerk R.** Nasal Prong Continuous Positive Airway Pressure: A Practical Guide. New York: Children's Hospital of New York (2004).
9. **Delaney AL, Arvedson JC.** Development of swallowing and feeding: prenatal through first year of life. *Dev Disabil Res Rev* 14, 105–117 (2008).
10. **Duvareille C, Lafrance M, Samson N, St-Hilaire M, Pladys P, Micheau P, Bournival V, Langlois C, Praud J-P.** Effects of hypoxia and hypercapnia on non-nutritive swallowing-breathing coordination in lambs. *J Appl Physiol* 103: 1180–1188 (2007).
11. **Elgellab A, Riou Y, Abbazine A, Truffert P, Matran R, Lequien P, Storme L.** Effects of nasal continuous positive airway pressure (NCPAP) on breathing pattern in spontaneously breathing premature newborn infants. *Intensive Care Med* 27, 1782–1787 (2001).
12. **Ertekin C, Aydogdu I.** Neurophysiology of swallowing. *Clin Neurophysiol* 114, 2226–2244 (2003).
13. **Fucile S, Gisel E, Lau C.** Oral stimulation accelerates the transition from tube to oral feeding in preterm infants. *J Pediatr* 141, 230–236 (2002).
14. **Gaon P, Lee S, Hannan S, Ingram D, Milner AD.** Assessment of effect of nasal continuous positive pressure on laryngeal opening using fibre optic laryngoscopy. *Arch Dis Child* 80: F230–F232 (1999).
15. **Gewolb IH, Vice FL.** Maturation changes in the rhythms, patterning, and coordination of respiration and swallow during feeding in preterm and term infants. *Dev Med Child Neurol* 48, 589–594 (2006).
16. **Hanlon MB, Tripp JH, Ellis RE, Flack FC, Selley WG, Shoesmith HJ.** Deglutition apnoea as indicator of maturation of suckle feeding in bottle-fed preterm infants. *Dev Med Child Neurol* 39: 534–542 (1997).

17. **Kijima M, Isono S, Nishino T.** Modulation of swallowing reflex by lung volume changes. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 1855–1858 (2000).
18. **Kochanek KD, Kirmeyer SE, Martin JA, Strobino DM, Guyer B.** Annual summary of vital statistics: 2009. *Pediatrics* 129, 338–348 (2012).
19. **Krawinkel MB.** Current challenges in pediatric nutrition. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 41, 234–239 (2011).
20. **Lau C.** Development of oral feeding skills in the preterm infant. *Arch Pediatr* 14 Suppl 1, S35–41 (2007).
21. **Lau C, Smith EO, Schanler RJ.** Coordination of suck-swallow and swallow respiration in preterm infants. *Acta Paediatrica* 92: 721–727 (2003).
22. **Mahmoud RA, Roehr CC, Schmalisch G.** Current methods of non-invasive ventilatory support for neonates. *Paediatr Respir Rev* 12: 196–205 (2011).
23. **Marquez JM, Douglas ME, Downs JB, Wu WH, Mantini EL, Kuck EJ, Calderwood HW.** Renal function and cardiovascular responses during positive airway pressure. *Anesthesiology* 50: 393–398 (1979).
24. **Martin-Harris B.** Coordination of respiration and swallowing. In Shaker and Goyal *GI Motility online—Part 1 Oral cavity, pharynx and esophagus* (Goyal R, R. S eds.), vol. 2008. pp. web page. London: Nature Publishing Group; (2006): [<http://www.nature.com/gimo/contents/pt1/full/gimo10.html>]
25. **Mesiano G, Davis GM.** Ventilatory strategies in the neonatal and paediatric intensive care units. *Paediatr Respir Rev* 9, 281–8; quiz 288–9 (2008).
26. **Mistry S, Hamdy S.** Neural Control of Feeding and Swallowing. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* 19, 709–728 (2008).
27. **Mizuno K, Ueda A.** The maturation and coordination of sucking, swallowing, and respiration in preterm infants. *J Pediatr* 142: 36–40 (2003).
28. **Nyqvist KH.** Early attainment of breastfeeding competence in very preterm infants. *Acta Paediatrica* 97: 776–781 (2008).
29. **Praud J-P.** Upper airway reflexes in response to gastric reflux. *Paediatr Respir Rev* 11: 208–212 (2010).
30. **Reix P, Arsenault J, Langlois C, Niyonsenga T, Praud J-P.** Non-nutritive swallowing and respiration coordination in preterm lambs *J Appl Physiol* 97: 1283–1290 (2004).
31. **Reix P, Fortier PH, Niyonsenga T, Arsenault J, Letourneau P, Praud J-P.** Non-nutritive swallowing and respiration coordination in full-term newborn lambs. *Respir Physiol Neurobiol* 134: 209–218 (2003).
32. **Roehr CC, Schmalisch G, Khakban A, Proquitte H, Wauer RR.** Use of continuous positive airway pressure (CPAP) in neonatal units—a survey of current preferences and practice in Germany. *Eur J Med Res* 12: 139–144 (2007).
33. **Samson N, Roy B, Ouimet A, Moreau-Bussiere F, Dorion D, Mayer S, Praud J-P.** Origins of the inhibiting effects of nasal CPAP on nonnutritive swallowing in newborn lambs. *J Appl Physiol* 105: 1083–1090 (2008).
34. **Samson N, St-Hilaire M, Nsegbe E, Reix P, Moreau-Bussiere F, Praud J-P.** Effect of nasal continuous or intermittent positive airway pressure on nonnutritive swallowing in the newborn lamb. *J Appl Physiol* 99: 1636–1642 (2005).

35. **Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C, Smith EO, Heitkemper MM.** Feeding strategies for premature infants: randomized trial of gastrointestinal priming and tube-feeding method. *Pediatrics* 103, 434–439 (1999).
36. **Simpson C, Schanler RJ, Lau C.** Early Introduction of Oral Feeding in Preterm Infants. *Pediatrics* 110: 517–522 (2002).
37. **St-Hilaire M, Samson N, Nsegbe E, Duvareille C, Moreau-Bussière F, Micheau P, Lebon J, Praud J-P.** Postnatal maturation of laryngeal chemoreflexes in the preterm lamb. *J Appl Physiol* 102: 1429-1438 (2007).
38. **Thach BT.** Some aspects of clinical relevance in the maturation of respiratory reflexes in infants. *J Appl Physiol* 104: 1828-1834 (2008).
39. **Thomas JA.** Guidelines for bottle feeding your premature baby. *Adv Neonatal Care* 7: 311–318 (2007).
40. **Thoyre SM.** Feeding outcomes of extremely premature infants after neonatal care. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 36: 366-375 (2007).
41. **Tuladhar R, Harding R, Michael Adamson T, Horne RS.** Comparison of postnatal development of heart rate responses to trigeminal stimulation in sleeping preterm and term infants. *J Sleep Res* 14: 29-36 (2005).
42. **Wen SW, Smith G, Yang Q, Walker M.** Epidemiology of preterm birth and neonatal outcome. *Semin Fetal Neonatal Med* 9, 429–435 (2004).