

DÉBORA MARCHETTI CHAVES THOMAZ

**SUPLEMENTO NUTRICIONAL DERIVADO DO LEITE HUMANO
PARA RECÉM-NASCIDOS DE MUITO BAIXO PESO**

Campo Grande

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DÉBORA MARCHETTI CHAVES THOMAZ

**SUPLEMENTO NUTRICIONAL DERIVADO DO LEITE HUMANO
PARA RECÉM-NASCIDOS DE MUITO BAIXO PESO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Durval Batista Palhares

Co-orientador: Prof. Dr. Petr Melnikov

Campo Grande

2010

FOLHA DE APROVAÇÃO

DÉBORA MARCHETTI CHAVES THOMAZ

**SUPLEMENTO NUTRICIONAL DERIVADO DO LEITE HUMANO
PARA RECÉM-NASCIDOS DE MUITO BAIXO PESO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Durval Batista Palhares – Presidente
Instituição UFMS

Prof. Dr. Francisco Eulogio Martinez
Instituição FMRP USP-SP

Prof^a. Dra. Aby Jaine da Cruz Montes Moura
Instituição UFMS

Prof^a. Dra. Carmen Martimbianco Figueiredo
Instituição UFMS

Prof. Dr. Petr Melnikov
Instituição UFMS

Prof^a. Dra Gildney Maria dos Santos Alves – Suplente
Instituição UFMS

Dedicatória

Aos meus filhos, Henrique, Eduardo e Gabriela, que em suas simplicidades e individualidades colorem e iluminam a vida, me ensinando que amar é incondicional.

Ao meu esposo querido, José, companheiro incansável, meu porto seguro.

A meus pais: Silvio e Ida que me deram a oportunidade de viver e com amor, mostraram o caminho a seguir.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao **Professor Doutor Durval Batista Palhares**, por me oferecer a oportunidade de realizar o aperfeiçoamento acadêmico, pela paciência e bom humor, ao conduzir-me por esta trilha.

Pelos conhecimentos adquiridos e pelo contágio com o entusiasmo da pesquisa,

Obrigada!

AGRADECIMENTOS

- À **presença Divina**.
- Às **mães**, que confiaram em nosso saber e nos autorizaram a realizar esta pesquisa. Sem essa confiança, nada se realizaria.
- Aos meus **familiares**, aconchego, sem os quais essa caminhada seria pesada demais. Dentre eles, **Clovis e Nívea**, por me acolherem no início da caminhada acadêmica, me apoiando ainda hoje e todos os dias. **Sabrina**, querida, muito mais que sobrinha, sempre amável e disposta. **Silvia e Cláudia**, que apesar da distância sempre me ofereceram uma palavra de apoio.
- Ao **Prof. Dr. Petr Melnikov**, pessoa única, paciente, que em sua sabedoria nos faz entender a simplicidade das coisas.
- À **Prof.^a Dra. Aby Jaine da Cruz Montes Moura e à Prof.^a Dra. Carmen Silvia Martimbianco de Figueiredo**, críticas, incentivadoras, ombro amigo. Por terem participado ativamente de todo o processo de realização dessa pesquisa.
- Ao **Departamento de Pediatria**, entre eles, **Prof.^a Dra. Gildney Maria dos Santos Alves**, por me apoiar nas horas difíceis.
- À **Prof.^a Maria Cristina Arrua Sanches**, por ter me feito acreditar que poderia ser docente.
- A todos os integrantes do **Serviço de Pediatria** do Hospital Universitário, que nas horas mais adversas estavam presentes.
- À **Erica Naka Matos**, por ser especial em todos os momentos.
- À **Silvia Nakashita**, que não mediu esforços em me ajudar com os grupos de estudo, amiga, que acredita no que somos capazes.

- A **toda equipe de Neonatologia do Hospital Universitário**, em especial a **enfermagem**, dedicada em manter a vida de pequenas pessoas, tão importante a outros.
- Aos **residentes de pediatria** por me ajudarem na coleta dos dados.
- A toda **equipe do banco de leite** representada por **Elisabete Kamiya** que muito colaborou com a elaboração e com o desenvolvimento dessa pesquisa. Em destaque, a funcionária **Ramona Pinto de Souza Araújo** pelo empenho na aquisição das doações, mas principalmente por acreditar.
- Ao **Prof. Justiano Barbosa Vavas**, que quando Presidente da Unimed Campo Grande, confiou nos benefícios prováveis dessa pesquisa, realizou a doação do dinheiro para a compra da desnatadeira.
- Ao **Departamento de Medicina Veterinária** da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, que emprestou o liofilizador e deu todo apoio para a sua utilização.
- À **Sebastiana Arminda Rodrigues de Arruda**, primeira pessoa em que confiei a ajuda com a manipulação do leite.
- À **Elaine Cristina de Almeida Vargas**, pela ajuda com a manipulação do leite
- Ao **Departamento de Tecnologia de Alimentos**, pelo apoio técnico e humano na realização desta pesquisa.
- À **Marcio Olívio Figueiredo Vargas**, pelas análises bioquímica e incansável discussão dos resultados.
- A **Sandra Maura Agueira e Wander Fernando Filiu**, pelo apoio com as análises bioquímicas.
- A **Ana Maria Miguel Figueiredo e Baltazar Nunes**, do laboratório de Fluidos Orgânicos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (SP), pela realização da análise da osmolalidade dos leites.

- À **Luciana Venhofen e Albert Schiaveto de Souza**, pelo tratamento estatístico e pela paciência em me ensinar a compreender os resultados.
- À **Rosangela Ferreira**, nutricionista, que me ensina sobre sua arte.
- À **Paula de Oliveira Serafin**, querida amiga, sempre presente, desde a elaboração do projeto até a sua finalização.
- À **Judina Lilian Cangussu de Melo**, que na minha ausência acolheu os pacientes de consultório.
- À **Joanina Rodrigues Neves**, pela gentileza e eficiência na condução de seu serviço.
- À **José Armando Matos de Araújo**, pela correção gramatical.
- À **equipe do Ambulatório de Pediatria**, que entendeu as minhas ausências.
- Ao **Programa de Pós Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste**, através de seus professores e funcionários, que possibilitaram a realização de um grande sonho, a concretização de um grande projeto, em especial ao **Prof. Dr. Ricardo Aydos**, pela conquista do programa e pela luta diária em mantê-lo com qualidade.

“As perguntas são diamantes que observas contra a luz. Estuda uma vida inteira e verá diferentes cores na mesma jóia. As mesmas perguntas formuladas várias vezes te darão as respostas que necessita no momento exato.”

(Richard Bach)

RESUMO

Recém nascidos prematuros de muito baixo peso alimentados com leite humano necessitam acréscimo a este leite de proteínas, calorias e eletrólitos para crescimento e desenvolvimento adequado. Os suplementos protéicos de origem homóloga são preferidos, porém de alto custo. Este estudo teve como objetivo manipular o leite humano para produzir um suplemento de origem homóloga e verificar a tolerância gastrointestinal, bioquímica e crescimento de RNMBP alimentados com leite humano acrescido desse suplemento. Foi retirada a gordura e a lactose do leite humano e após foi liofilizado. 5,49g do pó resultante desse processo foram acrescentados a 100 ml de pool de leite humano. A análise quantitativa de hidratos de carbono, proteína, lipídios, cálcio, fósforo, sódio, potássio, ferro, manganês, zinco, cobre, osmolalidade e conteúdo calórico de 20 amostras, comparada com 100 ml desse mesmo pool acrescido de FM85[®] (Nestlé), foram respectivamente: hidratos de carbono 7,25 e 10,06 g/dl (p=0,003); proteínas 2,38 e 1,96 g/dl (p=0,0001); lipídeos 3,75 e 3,73 g/dl (p=0,96); cálcio 44,74 e 79,37 mg/dl (p= 0,001); fósforo 23,28 e 55,97 mg/dl (p=0,0001); sódio 14,37 e 20,33 mEq/l (p=0,001); potássio 15,1 e 16,1 mEq/l (p=0,03); ferro 0,18 e 0,20 mg/dl (p=0,75); manganês 0,002 e 0,002 mg/dl (p=0,75) ; zinco 0,21 e 0,63 mg/dl (p=0,0001); cobre 0,16 e 0,05 mg/dl (p=0,0008); osmolalidade 412,47 e 431,00 mosm/kgH₂O (p=0,02) e calorias 72,27 e 81,65 kcal/dl (p=0,0001). Os resultados evidenciaram que o leite humano liofilizado após desnatado e retirada da lactose pode ser usado como suplemento de origem homóloga. Nove recém nascidos de muito baixo peso receberam leite humano acrescido de suplemento homólogo na concentração de 5,49 g% e dez receberam leite humano acrescido de FM85[®] na concentração de 5 g% e foram acompanhados por 15 dias após o início da nutrição enteral exclusiva. Os recém-nascidos de muito baixo peso dos dois grupos não apresentaram sinais de intolerância gastrointestinal. A análise do perfil bioquímico do grupo alimentado com SH mostrou que há necessidade de ajustes de cálcio e fósforo no suplemento proposto e a avaliação do crescimento mostrou que os recém-nascidos que recebeu SH e do que recebeu FM85[®] ganharam em peso 14,87 e 12,87 kg/kg/dia (p=0,56), e comprimento 0,91 e 0,89 cm/sem (p=0,92) respectivamente, de maneira semelhante, e em perímetro cefálico o que recebeu SH apresentou maior crescimento que o alimentado com FM85[®] 0,81 e 0,58 cm/sem respectivamente (p=0,04).

Palavras – chave: Nutrição neonatal, recém-nascido de muito baixo peso, suplemento do leite humano, leite humano, leite humano de banco, proteína do leite humano

ABSTRACT

Infants with very low birth weight fed with human Milk need to add protein, calories and electrolytes to this milk. The homologous supplement is preferred but more expensive. The goal of this study was to prepare a fortifier, derived of the human milk itself, thus with nutrients of homologous origin. Fat, lactose was removed and 70 ml of mature human milk pool was lyophilized, which resulted in 5.49 g of powder that was used as fortifier for 100 ml of human milk pool. The quantitative analysis of carbohydrates, protein, fat, calcium, phosphorus, sodium, potassium, iron, manganese, zinc, cooper, osmolality and caloric content of 20 samples of this enriched milk pool compared to 100 ml of that pool, added with commercial fortifier milk (FM85[®], Nestlé) were respectively: carbohydrates 7.25 and 10.06g% (p=0.003), proteins 2.38 and 1.96 (p<0.001), fat 3.75 and 3.73 g% (p=0.96), calcium 44.74 and 79.73 mg% (p<0.001), phosphorus 23.28 and 55.97 mg% (p<0.0001), sodium 14.37 and 20.33 mEq/l (p<0.01), potassium 15.1 and 16.1 (p=0.03) mEq/l, iron 0.18 and 0.20 mg% (p=0.75), manganese 0.002 and 0.002 mg% (p=0.75), zinc 0.21 and 0.63 mg% (p=0.0001), cooper 0.16 and 0.05 mg/% (p=0.0008), osmolality 412.47 and 431 (p<0.02) mosm/kgH₂O and calories 72.27 and 81.65 Kcal/dl (p<0.0001). The results showed that after you take off the lactose and fat of lyophilized human milk, it can be used as homologous supplement in a concentration of 5.49 g. Nine very low birth weight was locate to received breast milk plus homologous fortifier in concentration 5.49 g% and Ten received breast milk plus FM85[®] in concentration of 5g% and were accompanied for 15 days after the beginning of exclusively enteral nutrition. No one presents clinics of gastrointestinal intolerance. The biochemical profile of the group received homologous fortifier showed that it needs adjustments of calcium and phosphorus in this supplement. The growth study showed that very low birth weight infants of homologous fortifier and FM85[®] grow in weight 14.87 and 12.87 g/kg/day (p=0.56), and length 0.91 and 0.89 cm/week (p=0.92) similarly. Grow in cephalic perimeter in the group received homologous fortifier was 0.81 and in group of FM85[®] was 0.58 cm/week. GI had bigger growth (p=0.04).

Keywords: Neonatal nutrition, Very low birth weight, Breast milk, Human milk fortifier, Donor human milk, Human milk protein.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Recomendações nutricionais para o crescimento de recém-nascidos pré-termo de acordo com as recomendações dos comitês de nutrição.	27
Tabela 2 –	Linha do tempo: Nutrição de recém-nascidos pré-termo durante o século XX	40
Tabela 3 –	Comparação do conteúdo nutricional do leite humano maduro, de banco de leite e leite humano da mãe prematuro, com os requerimentos nutricionais estabelecidos pelo consenso estabelecido em 1993	44
Tabela 4 –	Comparação dos macronutrientes, hidratos de carbono, proteínas, lipídios, osmolalidade e valor calórico das amostras de 100 ml de leite humano com suplemento homólogo e FM85®	74
Tabela 5 –	Comparação dos minerais, cálcio, fósforo, sódio, potássio, ferro, manganês, zinco e cobre, das amostras de 100 ml de leite humano com suplemento homólogo e FM85®	75
Tabela 6 –	Valores séricos de uréia, creatinina, sódio, potássio, magnésio cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, albumina, aspartato aminotransferase, alanino aminotransferase, triglicérides, hematócrito, hemoglobina no início e no final da suplementação do leite humano com suplemento homólogo e FM85®	81
Tabela 7 –	Comparação da velocidade relativa de ganho em peso e da velocidade de ganho em, comprimento e perímetro cefálico durante o período de estudo entre o grupo alimentado com leite humano com suplemento homólogo e o alimentado com leite humano com FM85®	84

Tabela 8 – Comparação entre o conteúdo nutricional do leite da mãe do pré-termo com o suplemento derivado do leite humano, Eoprotin [®] e Prolacta+4 [®] , preparados para 100 ml de leite.....	98
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Desnatadeira modelo 18 GR.....	54
Figura 2 –	Evaporador MARCONI MA120i®	55
Figura 3 –	Centrifuga com refrigeração SIGMA 3K30®.....	55
Figura 4 –	Tubo cônico de plástico mostrando o precipitado de lactose evidenciado pela cor branca.....	56
Figura 5 –	Transferência do leite humano após precipitação da lactose para os recipientes de vidro.....	56
Figura 6 –	Tubos cônicos antes e após a retirada da lactose.....	57
Figura 7 –	Recipientes de vidro contendo leite humano, após a retirada da lactose.....	57
Figura 8 –	Manipulação de amostras em capela de fluxo laminar (LABCONCO®).....	58
Figura 9 –	Liofilizador EDWARDS®	59
Figura 10 –	Gráfico ilustrando os dados bioquímicos de sódio.....	82
Figura 11 –	Gráfico ilustrando os dados bioquímicos de cálcio e fósforo.....	83
Figura 12 –	Gráfico ilustrando os dados bioquímicos de fosfatase alcalina.....	83
Figura 13 –	Gráfico ilustrando o crescimento em peso do grupo alimentado com SH e do alimentado com FM85®	85
Figura 14 –	Gráfico ilustrando o crescimento em comprimento do grupo alimentado com SH e do alimentado com FM85®	86

Figura 15 – Gráfico ilustrando a velocidade de crescimento do perímetro cefálico em cm/sem do grupo alimentado com SH e do alimentado com FM85®	87
Figura 16 – Gráfico ilustrando o crescimento em perímetro cefálico do grupo alimentado com SH e do alimentado com FM85®	88
Figura 17 – Etapas do processamento do leite humano para originar suplemento homólogo.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido aracdônico
AAP	Academia Americana de Pediatria
AGPICL	Ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa
AIG	Adequado para a idade gestacional
ALT	Alanino-aminotransferase
AST	Aspartato-aminotransferase
CON	Comitê de nutrição
CPS	Sociedade de Pediatria Canadense
DHA	Ácido docosahexaenóico
ECN	Enterocolite necrotizante
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético
ESPGAN	Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica
GI	Grupo I
GIG	Grande para a idade gestacional
GII	Grupo II
HU	Hospital universitário
IG	Idade gestacional
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G

IgM	Imunoglobulina M
LH	Leite humano
LHB	Leite humano de banco
LHPr	Leite humano pré-termo
LM	Leite humano maduro
LV	Leite de vaca
PIG	Pequeno para idade gestacional
q.s.p.	quantidade suficiente para
RN	Recém – nascido
RNEBP	Recém – nascidos de extremo baixo peso
RNMBP	Recém – nascidos de muito baixo peso
RNPT	Recém – nascidos pré-termo
RNT	Recém – nascidos de termo
r.p.m.	rotações por minuto
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
VCI	Velocidade de incremento de peso
VCU	Velocidade de ganho de peso por unidade

LISTA DE SIMBOLOS

kcal	quilocaloria
<	menor
>	maior
ml	mililitro
g	grama
USP	Unidade USP
µg	micrograma
mg	miligrama
ml/kg	mililitro por quilograma de peso
%	porcentagem
ml/kg/dia	mililitros por quilograma de peso por dia
kcal/kg/dia	quilocaloria por quilograma de peso por dia
g/dl	grama por decilitro
g/kg/dia	grama por quilograma de peso por dia
mg/kg/dia	miligrama por quilograma de peso por dia
mEq/kg/dia	miliequivalente por quilograma de peso por dia
mg/kg	miligrama por quilograma de peso
mg/dl	miligrama por decilitro
kcal/dl	quilocaloria por decilitro

-	menos
°C	graus Celsius
α	alfa
+	mais
®	marca registrada
g%	gramas por porcentagem
kg	quilogramas
cm	centímetros
m/v	massa por volume
v	volume
n°	número
fc	fator de conversão
D	Densidade
±	mais ou menos
=	igual
nm	nanometro
pH	potencial hidrogeniônico
PA	para análise
mg/dl	mg/dl
X	média
EPM	erro padrão da média

p	valor p
n	número populacional
UI	unidades por litro
g/kg/dia	grama por quilograma de peso por dia
cm/sem	centímetro por semana
≤	menor ou igual
mmol/l	milimol por litro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 Necessidades nutricionais.....	26
1.1.1 Necessidades hídricas.....	26
1.1.2 Necessidades macronutrientes.....	28
1.1.3 Necessidades de minerais e elementos traço.....	30
1.2 Leite humano.....	35
1.3 Leite humano pré-termo.....	37
1.4 Leite humano de banco.....	38
1.5 Fórmulas.....	39
2 OBJETIVOS.....	48
2.1 Objetivo geral.....	48
2.2 Objetivos específicos.....	48
3 MATERIAL E CASUÍSTICA	50
3.1 População.....	50
3.2 Preparo do suplemento.....	53
3.2.1 Primeira fase – Retirada da gordura.....	53
3.2.2 Segunda fase – Retirada da lactose.....	53
3.2.3 Terceira fase – Liofilização.....	58
3.3 Análise nutricional.....	60
3.3.1 Determinação de hidratos de carbono.....	60
3.3.2 Determinação de proteínas.....	61
3.3.3 Determinação de lipídios.....	63
3.3.4 Determinação de cálcio.....	64
3.3.5 Determinação de fósforo.....	66
3.3.6 Determinação de sódio e potássio.....	67
3.3.7 Determinação de ferro.....	67
3.3.8 Determinação de manganês.....	68

3.3.9	Determinação de zinco e cobre.....	69
3.3.10	Determinação da osmolalidade.....	71
3.3.11	Determinação do conteúdo calórico.....	71
3.4	Análise estatística.....	71
4	RESULTADOS	74
4.1	Análise nutricional do suplemento.....	74
4.1.1	Hidrato de carbono.....	75
4.1.2	Proteína.....	75
4.1.3	Lipídio.....	75
4.1.4	Osmolalidade.....	76
4.1.5	Conteúdo calórico.....	76
4.1.6	Cálcio.....	76
4.1.7	Fósforo.....	76
4.1.8	Sódio.....	77
4.1.9	Potássio.....	77
4.1.10	Ferro.....	77
4.1.11	Manganês.....	77
4.1.12	Zinco.....	77
4.1.13	Cobre.....	78
4.2	Características da população estudada.....	78
4.2.1	Sexo.....	78
4.2.2	Idade gestacional.....	78
4.2.3	Peso de nascimento.....	78
4.2.4	Adequação do peso de nascimento.....	79
4.2.5	Nutrição enteral mínima.....	79
4.2.6	Nutrição enteral exclusiva.....	79
4.2.7	Volume de dieta total.....	79
4.2.8	Caloria total.....	79
4.2.9	Ventilação mecânica.....	80
4.3	Tolerância gastrointestinal.....	80
4.4	Parâmetros bioquímicos.....	80
4.4.1	Sódio.....	80
4.4.2	Cálcio e fósforo.....	81

4.4.3 Fosfatase alcalina.....	81
4.5 Crescimento.....	84
4.5.1 Peso.....	84
4.5.2 Comprimento.....	85
4.5.3 Perímetro cefálico.....	86
5 DISCUSSÃO	89
6 CONCLUSÕES	108
REFERENCIAS	110
APÊNDICES	128
Apêndice A.....	128
Apêndice B.....	129
Apêndice C.....	130
Apêndice D.....	132
ANEXOS	133
Anexo 1.....	133
Anexo 2.....	134

1 INTRODUÇÃO

A nutrição neonatal vem sendo alvo de estudos nas últimas décadas em decorrência, principalmente, da maior sobrevivência de recém nascidos pré-termo (RNPT) cada vez menores (WEGMAN, 2001). Fazer com que esses recém-nascidos, de muito baixo peso (RNMBP), cresçam e se desenvolvam como se estivessem ainda no ambiente intra-útero, é um constante desafio à equipe multidisciplinar que atende esta população. O conhecimento da fisiologia do último trimestre gestacional e os aspectos nutricionais necessários para promoção do crescimento nesse período são imprescindíveis para o tratamento desta população.

Os RNPT perdem uma parte ou todo último trimestre gestacional e as aquisições anatômicas e de desenvolvimento de determinadas vias metabólicas e estoque tecidual de determinados nutrientes que deveriam ocorrer neste período, intra-útero, encontram-se prejudicadas interferindo nas necessidades nutricionais e na forma de supri-las. Quanto maior a prematuridade e menor o peso, maiores são as dificuldades enfrentadas para a sobrevivência fora do espaço intra-uterino em decorrência das limitações morfofuncionais (HAY *et al.*, 1999; MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001).

Antes do nascimento o feto recebe seus nutrientes por transferência placentária e por assimilação enteral da proteína e de outros componentes do líquido amniótico, depois do nascimento, o recém-nascido (RN) necessita ser metabolicamente independente para manter a homeostase, e para isso há necessidade de adaptação à nutrição enteral, com ingresso intermitente do alimento, leite, no intestino (HAY *et al.*, 1999; MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001).

Há comprometimento da maturidade do sistema gastrintestinal, a sucção inicia-se a partir da 28^a semana pós-concepção e a coordenação sucção- deglutição e respiração ocorrem a partir da 32^a até a 34^a ; o fechamento do esfíncter esofágico inferior é débil, o que predispõe ao refluxo gastro-esofágico; a capacidade gástrica é limitada e o esvaziamento gástrico é demorado, em decorrência do lento peristaltismo; a motilidade intestinal não é coordenada e as respostas hormonais às

refeições é lenta (EDMOND; RAJIV, 2006). Estas alterações fazem com que na primeira semana a oferta de nutrientes seja por via parenteral; e até que a via oral seja possível, inicia-se a alimentação por via enteral com limitação de volume, e da quantidade de nutrientes e comprometimento da frequência das dietas, com consequente interferência na oferta calórica (EDMOND; RAJIV, 2006).

A imaturidade do sistema renal e hepático também se relaciona com a nutrição. O sistema hepático produz quantidade insuficiente de sais biliares que somados ao comprometimento da circulação êntero-hepática contribuem para a dificuldade de absorção de lipídios via intestinal. No sistema renal, a taxa de filtração glomerular e a capacidade de concentração urinária dos RNPT estão limitadas com consequente diminuição da absorção de sódio, glicose e aminoácidos e excreção urinária aumentada de bicarbonato, predispondo os RNPT a distúrbios hídricos, hiperosmolaridade e a acidose metabólica (EDMOND; RAJIV, 2006).

A maturação das funções bioquímicas acontece bem precocemente na vida intra-uterina, o que permite a digestão de gordura, proteínas e hidrato de carbonos, mesmo em RNMBP, porém, com certa limitação por deficiências enzimáticas (GAULL *et al.*, 1977; RASSIN *et al.*, 1977; MACLEAN; FINK, 1980; NEWELL, 2000; FARRAG; COWETT, 2000; PUTET, 2000; KALHAN; IBEN, 2000). A alimentação por via enteral deve respeitar a capacidade digestiva dos macronutrientes, discutidas a seguir.

Por volta de 28 semanas pós-concepção, os níveis de atividades das dissacaridases são iguais ao dos recém-nascidos de termo (RNT), exceto da lactase, que entre 28 e 30 semanas pós-concepção apresenta somente 30% da atividade encontrada nos RNT. Com o início da alimentação enteral mínima, a atividade da lactase aumenta rapidamente, e mesmo os recém-nascidos de extremo baixo peso (RNEBP) toleram bem a quantidade de lactose contida no leite humano (LH) (NEWELL, 2000; FARRAG; COWETT, 2000).

Os RNPT têm restrita produção de ácido clorídrico por conter menor número de células parietais e receptores de gastrina, e em consequência há prejuízo da ação da pepsina. Estes fatores não comprometem o processo digestivo de proteínas porque várias proteases e peptidases estão disponíveis como a gástrica, pancreática

e intestinal. Há elevação significativa dos níveis de tripsinogênio e tripsina a partir da 26ª semana pós-concepção e de proteases pancreática a partir da 28ª semana pós-concepção (KALHAN; IBEN, 2000).

As lipases, lingual, gástrica, e a lipase presente no LH ajudam a absorver os lipídios por via enteral, porém o excesso na oferta de gordura por esta via poderá ocasionar esteatorreia em decorrência da imaturidade do sistema hepático (PUTET, 2000).

A imaturidade das enzimas envolvidas na metabolização das proteínas pode acarretar acúmulo ou carência de certos aminoácidos e a dificuldade de alongar os ácidos graxos pode predispor a deficiência de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPICL), em função da dieta recebida (KALHAN; IBEN, 2000).

Somado a todos estes fatores, esta a dinâmica do crescimento do RNPT que é peculiar, e tem influencia direta nos aspectos nutricionais desta população. Tem como características diferentes períodos: período de perda de peso (fase inicial que se relaciona às modificações na distribuição de água e eletrólitos corpóreos, a perda de peso nesta fase é inversamente proporcional ao peso de nascimento); período de mínimo crescimento (fase transitória, em que se espera que as alterações clínicas já tenham sido controladas e que uma oferta calórica mais adequada seja atingida, quanto menor o recém-nascido maior a duração); período de maior crescimento (fase de crescimento acelerado, desde que seja mantido um adequado suporte nutricional que é inversamente proporcional ao peso de nascimento e ocorre até a recuperação do ritmo de crescimento individual) e período de normalização do crescimento (fase de crescimento normal, quando o recém-nascido cresce de acordo com o seu canal de crescimento, dentro de suas potencialidades genéticas) (ANCHIETA; XAVIER; COLOSIMO, 2002; ANCHIETA; XAVIER; COLOSIMO, 2004; XAVIER; ANCHIETA; ORNELAS, 2004; BERTINO *et al*, 2006).

As peculiaridades morfofuncionais e de crescimento descritas demandam ações nutricionais específicas principalmente logo após o nascimento, e esses aspectos contribuem para os achados dos requerimentos nutricionais vigentes norteando as maneiras de ofertar alimentos e os tipos de alimentos para promover crescimento e desenvolvimento considerado adequados, ou seja, próximo ao

encontrado, se os RNPT estivessem ainda em ambiente intra-uterino (AAP-CON, 1985).

1.1 Necessidades Nutricionais

Os mesmos requerimentos nutricionais para o crescimento e desenvolvimento do feto intra-útero devem ser mantidos imediatamente após o nascimento; a maioria das necessidades nutricionais não é alterada pelo nascimento. Os RNPT necessitam da mesma quantidade de aminoácidos para aumentar a estrutura corporal, o seu cérebro necessita da mesma taxa de glicose para o metabolismo energético e as necessidades de lipídios devem ser supridas para o crescimento dos componentes estruturais celulares. Essas necessidades são modificadas por influência das condições extra-uterinas e dependem do grau da imaturidade fisiológica (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987; CPS-CON, 1995; PEREIRA, 2008).

As recomendações de aporte de nutrientes, especialmente para os RNMBP e RNEBP, não são padronizadas, assim a administração de nutrientes a estes deve ser individualizada (ZIEGLER, 1994; MORLEY; LUCAS, 1997; MORO; MINOLI, 1998).

Tsang *et al.* (1993) compararam as recomendações nutricionais dos comitês de nutrição da Academia Americana de Pediatria (AAP-CON) e da Sociedade Europeia de Gastroenterologia Pediátrica (ESPGAN-CON) e chegaram a um consenso para as necessidades nutricionais de RNMBP e RNEBP expostos na tabela 1.

Alguns aspectos de determinados nutrientes devem ser abordados porque são bastante discutidos na literatura, a sua relação com o crescimento de RNPT.

1.1.1 Necessidades hídricas

As necessidades hídricas variam inversamente com a idade gestacional, pois as perdas insensíveis de água são maiores quanto menor for o recém-nascido. Variam também com seu estado metabólico e com a presença ou não de determinadas condições clínicas e ambientais (PEREIRA; BARBOSA, 1986; RIGO; SENTERRE, 2006, GONÇALVES *et al.*, 2007).

Tabela 1 – Recomendações nutricionais para o crescimento de recém-nascidos pré-termo de acordo com as recomendações dos comitês de nutrição.

Nutrientes por 100 Kcal†	AAP-CON‡	ESPGAN-CON ‡	Recomendação Consenso	
			<1000g	>1000g
Água, ml		115-154	125-167	
Energia, Kcal	100	100	100	
Proteína, g	2,9-3,3	2,25-3,1	3,0-3,16	2,5-3,0
Hidrato de carbono, g	9-13	7-14		
Lactose, g			3,16-9,5	3,18-9,8
Oligossacarídeos, g				0-7,0
Gordura, g	4,5-6,0	3,6-7		
Acido linoléico, g	0,4	0,5-1,4	0,44-1,7	
Acido linolênico, g		>0,055	0,11-0,44	
C18:2/C18:3			>5	
Vitamina A USP unidade	75-225	270-450	583-1250	
Vitamina D USP unidade	270	800-1600	125.333	
Vitamina E USP unidade	>1.1	0,6-10		
Vitamina K, µg	4	4-15	6,66-8,33	
Ascorbato, mg	35	7-40	15-20	
Tiamina, µg	>40	20-250	150-200	
Riboflavina, µg	>60	60-600	200-300	
Piridoxina, µg	>35	35-250	125-175	
Niacina, mg	>0,25	0,8-5,0	3-4	
Pantotênico, mg	>0,3	>0,3	1-15	
Biotina, µg	>1,5	>1,5	3-5	
Folato, µg	33	>60	21-42	
Vitamina B12, µg	>0,15	>0,15	0,25	
Sódio, mEq	2,08-2,9	23-53	1,65-2,52	
Potássio, mEq	1,69-1,74	2,3-3,89	1,66-2,56	
Cloro, mg		57-89	59-89	
Cálcio, mg	175	70-140	100-192	
Fósforo, mg	91,5	50-87	50-117	
Magnésio, mg		6-12	6,6-12,5	
Ferro, mg	1,7-2,5	1,5	1,67	
Zinco, mg	>0,500	0,55-1,1	0,833	
Cobre, mg	0,09	0,09-0,12	0,1-0,125	
Selênio, µg			1,08-2,5	
Manganês, µg	>5	1,5-7,5	6,3	
Iodo, µg	5	10-45	25-50	
Taurina, mg			3,75-7,5	
Carnitina, mg		>1,2	2,4	
Inositol, mg			27-67,5	
Colina, mg			12-23,4	

Fonte: Tsang, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S, Eds. Nutritional needs of The Preterm Infants: Scientific and Practical Guidelines. Baltimore, Williams & Wilkins; 1993:296. †120kcal/kg/d conversão de recomendação por kg; ‡ AAP-CON: American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition; ESPGAN-CON: European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, Committee on Nutrition of the Preterm Infant.

Os RNMBP devem receber no primeiro dia 60 a 80 ml/kg de líquido, este volume deve ser aumentado para 90 ml/kg no segundo dia, e 120 ml/kg no terceiro dia de vida, e mesmo assim, as necessidades podem ser individualizadas. Sob calor

radiante pode ser necessário o acréscimo de 25% ou mais ao volume prescrito. A partir do terceiro dia pode ser necessário acréscimo para manter o paciente hidratado. Podendo-se atingir um volume diário de 150 a 180 ml/kg/dia. O balanço hídrico deve ser realizado a cada 6 horas para individualizar as necessidades hídricas (PEREIRA; BARBOSA, 1986; RIGO; SENTERRE, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2007).

Um grande problema enfrentado pelos neonatologistas é o fato de que determinadas circunstâncias clínicas, limitam a oferta hídrica dos RNMBP limitando também a oferta calórica, dificultando atingir os requerimentos nutricionais para o crescimento adequado.

1.1.2 Necessidades de macronutrientes

Os RNPT têm estoque de nutrientes reduzido, principalmente glicogênio hepático, e conseqüentemente não toleram privação, sobretudo se estão sobre estresse. Deve-se então começar o suporte nutricional nas primeiras horas de vida por via parenteral e a nutrição enteral deve ser iniciada assim que possível (FARRAG; COWETT, 2000). Estes pacientes necessitam de quantidade suficiente de calorias para suprir a taxa metabólica basal, a necessidade de síntese de novos tecidos e a formação do estoque de energia.

A taxa metabólica de RNPT, na primeira semana de vida, é menor que a dos RNT, variando de 50 a 100 kcal/kg/dia. Após esse período, usualmente as necessidades aumentam de 110 a 150 kcal/kg/dia, devido ao aumento na velocidade de crescimento. O comitê de nutrição da AAP recomenda a oferta de 120 kcal/kg/dia, porém este comitê reconhece que pode haver necessidade maior em RNPT que não estejam crescendo satisfatoriamente (AAP-CON, 1985).

Os RNPT devem receber macronutrientes para suprir as necessidades energéticas na proporção de 25 a 50% de hidratos de carbono, 10% a 15% de proteínas e 40 a 50% de gorduras em concordância com sua capacidade de digestão, absorção e metabolização (CPS-CON, 1995).

Os RNPT necessitam de fonte contínua de glicose desde o primeiro dia de vida para prevenir hipoglicemia, evitar catabolismo muscular e suprir as

necessidades cerebrais (ESPGAN-CON, 1987; TSANG *et al.*, 1993; CPS-CON, 1995; FARRAG; COWETT, 2000; MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001). Quando a via enteral estiver apta, inicia-se a nutrição enteral mínima com uso de leite humano. A lactose do leite humano aos poucos substitui a glicose oferecida pela nutrição parenteral e passa a ser a fonte de hidratos de carbono. O fornecimento de lactose deve estar em torno de 3 a 11 g/dl, preferencialmente não ultrapassando 8 g/dl, pois quantidades maiores estão relacionadas a aumento da osmolalidade no trato gastrointestinal e intolerância a lactose e conseqüente diarreia. (PEREIRA; BARBOSA, 1986; MACLEAN; FINK, 1980; DE CURTIS *et al.*, 1999; EDMOND; RAJIV, 2006).

Estudos têm demonstrado que para manter o balanço nitrogenado zero ou positivo há necessidade de infusão de proteínas desde o primeiro dia de vida. O oferecimento de aminoácidos, mesmo com baixo conteúdo de energia, economiza a proteína endógena por aumentar a síntese protéica (ZIEGLER, 1994; THUREEN *et al.*, 2003). Durante o período de crescimento estável os RNMBP necessitam 3,5 a 4 g/kg/dia para prover a quantidade de proteína próxima a que ocorreria se estivesse intra-útero. Para manter o balanço adequado de proteínas, é necessária a oferta, também, de quantidade suficiente de todos os aminoácidos não essenciais, porque se não estiverem em quantidade suficiente, os essenciais serão desviados para a produção de não essenciais, e, assim, diminuirá a síntese protéica. Portanto, não só a quantidade, mas a qualidade dos aminoácidos é importante para o crescimento adequado (RAIHÄ *et al.*, 1976; GAULL *et al.*, 1977; RASSIN *et al.*, 1977; PEREIRA; BARBOSA, 1986; POLBERG *et al.*, 1990; PALHARES *et al.*, 1990; KALHAN ; IBEN, 2000; PEREIRA, 2008). Os aminoácidos essenciais ou condicionalmente essenciais que não devem faltar na nutrição de RNPT são: tirosina, cisteína, taurina, histidina, glicina, glutamina e arginina (EDMOND; RAJIV, 2006).

Os lipídios são necessários ao desenvolvimento cerebral, da retina e para formação das membranas celulares, além de representarem a forma mais concentrada de energia para os RNPT. A oxidação da gordura fornece energia para as funções metabólicas basais e para suprir a energia necessária para a síntese tecidual (PUTET, 2000). Deverá ser ofertado a quantidade mínima de, 1% a 4% da

energia ingerida na forma de ácido linoléico e 1% como alfa linoléico. (PUTET, 2000; MENA, 2008; MARTINEZ; CAMELO Jr., 2001).

O controle da quantidade de lipídios a ser administrado por via parenteral e enteral deve ser baseado na quantidade de triglicerídeo sanguíneo, níveis plasmáticos maiores que 200mg/dl indicam a suspensão da infusão da emulsão de lipídios por via parenteral e diminuição da quantidade de lipídios por via enteral (CPS-CON, 1995).

Durante o período de crescimento estável, o total de lipídios recomendados é baseado no conteúdo de lipídio do LH, podendo variar de 3,8 a 11,6 g/kg/dia, sendo que a proximidade do valor máximo em uma dieta poderá ocasionar esteatorreia (CPS-CON, 1995; EDMOND; RAJIV, 2006).

1.1.3 Necessidades de minerais e elementos traço

Dois terços do conteúdo mineral do corpo do RN são depositados nos últimos três meses de gestação, portanto para manter o crescimento pós-natal de RNMBP e balanço eletrolítico, esses RNPT necessitam de quantidades mais elevadas de minerais (CPS-CON, 1995; CAMELO Jr; MARTINEZ, 2005).

Os RNPT apresentam, no nascimento, menor conteúdo mineral ósseo do que os RNT, e estando o crescimento ósseo diretamente relacionado ao suprimento energético e protéico e à oferta de cálcio e fósforo, há necessidade da oferta adequada destes nutrientes para a síntese da matriz do colágeno e mineralização óssea. Como o suprimento dessas substâncias por via enteral está limitado pela imaturidade, os RNPT são suscetíveis à osteopenia da prematuridade e a doença metabólica óssea (BISHOP, 1989; BRONNER, 1998; MATALOUN; CATACHE; LEONE, 2008).

O cálcio é absorvido no intestino por meio de transporte ativo e passivo, dependente de vitamina D. Nos RNPT, o transporte passivo contribui para o transporte da maior parte do cálcio administrado na dieta. A sua absorção sofre influência do tipo de sal utilizado, o gluconato e o glicerofosfato têm sido sugeridos como de melhor absorção quando comparados com o fosfato de cálcio. A qualidade de gordura pode interferir na absorção do cálcio. O palmitato, produto da

degradação de triglicerídeos, se liga ao cálcio formando sabões, impedindo a absorção deste mineral. A taxa média de absorção de cálcio do leite humano é de 60% (ALLEN, 1982; MATALOUN; CATAACHE; LEONE, 2008).

O fósforo é um importante constituinte do esqueleto e componente essencial de processos metabólicos intracelulares. O fósforo é absorvido no intestino por meio de transporte ativo ou passivo. Nos RNPT em aleitamento materno, 90% do fósforo é absorvido. Os fatores que podem interferir nesse processo são: sal de cálcio pouco absorvível e relação cálcio/fósforo diferente de 2:1 (BISHOP, 1989; MATALOUN; CATAACHE; LEONE, 2008).

As necessidades diárias de cálcio e fósforo por quilograma de peso corpóreo são baseadas nas taxas de incorporação intra-uterina e na avaliação da absorção, perda urinária e tecidual e retenção do que é oferecido por via enteral (KLEIN, 2002).

A quantidade de cálcio e fósforo que deve ser administrada aos RNPT, sugerida pelos comitês, varia. O comitê de nutrição da ESPGAN sugere a quantidade de 70 a 140 mg/kg/dia de cálcio e 50 a 90 mg/kg/dia de fósforo, e o da AAP, 200 a 250 mg/kg/dia de cálcio e 110 a 125 mg/kg/dia de fósforo para suprimir os requerimentos nutricionais do RNPT (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987; CPS-CON, 1995).

O sódio é essencial para regulação do volume extracelular, além de estar relacionado com a absorção de aminoácidos, peptídeos e monossacarídeos (KLEIN, 2002).

O balanço positivo de sódio é pré-requisito para o crescimento de RNPT e a perda renal de sódio é comum em RN menor de 32 semanas em decorrência da diminuição da reabsorção deste mineral nos túbulos renais, proximal e distal (AL DAHHAN *et al.*, 1983; MODI, 1993).

Ofertar sódio em quantidade aumentada desde o nascimento não é necessário. A suplementação deve iniciar quando ocorrer diminuição de aproximadamente 7% do peso de nascimento. A não suplementação de sódio a partir desta fase está relacionada a crescimento e desenvolvimento deficiente (AL DAHHAN *et al.*, 1984; AL DAHHAN; JANNOUN; HAYCOCK, 2002).

A quantidade de sódio ofertada na alimentação de RNMBP deve variar de 3 a 4 mEq/kg/dia por 2 a 4 semanas, e a partir de então o aporte poderá ser diminuído em decorrência do desenvolvimento dos sistemas de absorção gastrointestinal, excreção e retenção de sódio renal (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987; CPS-CON, 1995; TSANG *et al.*, 1993).

O ferro é fundamental para o crescimento, desenvolvimento e o funcionamento de todos os sistemas orgânicos, especialmente o hematopoiético e o cerebral. Sua incorporação a hemoproteínas envolvidas na divisão celular, transferências de elétrons e de oxigenação do organismo o faz ser um dos nutrientes de grande importância na nutrição de qualquer indivíduo e principalmente em RNPT, devido às necessidades aumentadas para suprir a velocidade de crescimento e a alta taxa metabólica em que se encontram (EHRENKRANZ, 1994; GEORGIEFF, 2008).

Processos fundamentais do desenvolvimento dependem do ferro. A deficiência de ferro no início da vida, antes da idade de três anos, causa uma disfunção persistente de órgãos, especialmente do cérebro, apesar da reposição desse elemento (GEORGIEFF, 2008).

Nos primeiros dois meses de vida, a deficiência de ferro não é a causa mais provável de anemia em RNPT, a não ser em decorrência de sangramento ao nascimento ou resultante de coletas de sangue para exames laboratoriais. Assim, nas primeiras semanas não há necessidade de suplementação de ferro. Após 6 a 8 semanas, os RNMBP devem receber suporte diário de 2 a 3 mg/kg de ferro por dia ou receberem fórmula contendo 1 a 2 mg/dl de ferro. RNEBP necessitam de 3 a 4 mg/kg/dia, que deve ser mantido até a idade de 12 meses corrigida (EHRENKRANZ, 1994; KLEIN, 2002).

O baixo estoque ao nascimento, o crescimento pós-natal rápido e a baixa quantidade da oferta alimentar, podem ocasionar deficiência também de manganês, zinco e cobre.

O manganês apresenta funções em várias áreas do metabolismo; é ativador de enzimas neoglicogênicas; atua na proteção de membranas mitocondriais por meio da superóxido dismutase que contém manganês; ativa a glicosiltransferase e

mucopolissacaridases necessárias para incorporação de mucopolissacarídeos na cartilagem, no osso e em outros tecidos conectivos (AGGET, 2000). Deficiência de manganês prejudica desenvolvimento do esqueleto, impedindo o crescimento adequado em RNT, além de provocar quadros de ataxia (KLEIN, 2002).

A absorção de manganês via intestinal em RNPT é maior que a de RNT, por outro lado, os RNPT tem maior perda devido a excreção biliar de manganês por limitação da circulação entero-hepática (KLEIN, 2002). Durante o período de transição, estabilidade e crescimento dos RNPT, o manganês requerido por estes varia de 0,002 mg/dl a 0,006 mg/dl (ESPGAN-CON, 1987; TSANG *et al.*, 1993; CPS-CON, 1995; KLEIN, 2002).

O zinco está envolvido em um grande número de processos enzimáticos; atua no metabolismo dos hidratos de carbono, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, sendo importante para o crescimento e diferenciação celular. Tem papel na estrutura hormonal e em fatores de transcrição genética e atua como antioxidante por ser componente da enzima cobre-zinco superóxido-dismutase, atuando na estabilização das membranas celulares, protegendo-as (GILES; DOYLE, 2007; KLEIN, 2002).

Por sua vasta atuação, sinais de deficiência de zinco podem ocorrer em RNPT e assemelham-se aos da deficiência de outros componentes da dieta (GILES; DOYLE, 2007).

A homeostase do zinco e utilização deste para formação de tecido novo, nos RNPT, depende da redistribuição das reservas hepáticas e óssea, da quantidade e da biodisponibilidade do zinco da dieta e de fatores que interferem na sua absorção, bem como da excreção fecal do zinco por meio de secreções pancreáticas e bile e das células de descamação da mucosa intestinal (TRINDADE, 2007; GILES; DOYLE, 2007).

Os RNPT apresentam trato gastrintestinal imaturo, resultando em perda de zinco nas primeiras semanas. Podem absorver de 25 a 40% do zinco da dieta, sendo que a caseína diminui a biodisponibilidade desse elemento, assim como o alto teor de ferro (GILES; DOYLE, 2007).

O crescimento é o principal fator para determinar as necessidades de zinco para pré-termos. Há necessidade da oferta de aproximadamente 0,5 a 0,8 mg/kg/dia nas primeiras duas semanas pós natal e aumento para 1 mg/kg/dia, quando o crescimento estabelecer-se (KLEIN, 2002; TRINDADE, 2007).

O cobre atua como intermediário na transferência de elétrons nas reações de oxiredução e é constituinte de várias enzimas, como citocromo-c oxidase (cadeia de transporte de elétrons); ceruloplasmina (libera o ferro dos depósitos e da transferrina); aminoxidases e cobre-zinco superóxido dismutase (protegem as membranas celulares contra danos oxidantes) (LÖNNERDAL, 1996).

A prematuridade é fator predisponente da deficiência de cobre no período neonatal e sintomas como anemia resistente à terapêutica com ferro, pode ser sinal de deficiência desse elemento traço. (LÖNNERDAL, 1996; KLEIN, 2002).

A absorção do cobre no intestino delgado é afetada pela ligação a proteínas. A ligação com a caseína dificulta a absorção do cobre, zinco e ferro, e interfere na captação intestinal. A biodisponibilidade do cobre varia conforme o tipo de alimento. Há absorção de 57% do cobre quando o alimento for LH acrescido de suplemento de origem heteróloga e 27% quando for fórmula. (KLEIN, 2002; TRINDADE, 2007; LÖNNERDAL, 1996).

Altas concentrações de zinco na dieta reduzem as concentrações séricas de cobre e de ceruloplasmina em decorrência da semelhança físico-química entre estes elementos (TRINDADE, 2007; KLEIN, 2002). A relação de 20:1 entre zinco e cobre na dieta é considerado a ideal (KLEIN, 2002). Considerando que os requerimentos são difíceis de serem avaliados e que RNPT alimentados com leite da própria mãe estariam protegidos de deficiências, a ingestão equivalente ao conteúdo do LH pode ser recomendada. A recomendação varia de 0,12 a 0,15 mg/kg/dia (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987; TSANG *et al.*, 1993; CPS-CON, 1995).

Para suprir os requerimentos nutricionais devemos conhecer as qualidades e limitações dos alimentos habitualmente utilizados na alimentação dos RNPT.

1.2 Leite humano

O LH é um fluido que fornece nutrientes e componentes bioativos, que facilitam as modificações adaptativas e funcionais, necessárias à transição para a vida extra-uterina (AAP, 1997; AAP, 2005), além de seus componentes facilitarem o estabelecimento da microbiota necessária para ativação do sistema imune intestinal e protegerem o lactente da ação de germes patogênicos (SCHANLER, 1995).

É composto por proteínas, hidratos de carbono, lipídios, minerais, vitaminas e por uma mistura de substâncias altamente complexas, entre elas: fatores bioativos, como imunoglobulina A (IgA) secretória, oligossacarídeos, ácidos graxos e lactoferrina; enzimas digestivas; vários hormônios não peptídeos, peptídeos e fatores de crescimento e peptídeos reguladores gastrointestinais. Essa composição sofre modificações acentuadas durante o processo de lactação, adequando-se às necessidades dos diferentes períodos de vida do lactente. A lactoferrina, a lisosima e a IgA secretória são proteínas específicas do soro lácteo humano envolvidas na defesa do hospedeiro (NEVILLE *et al.*, 1984; SCHANLER, 1995;).

A presença de fatores bifidogênicos e oligossacarídeos são importantes para o desenvolvimento da microbiota intestinal que irá a curto e longo prazo estimular o crescimento celular intestinal, balanço de células imunológicas e prevenir doenças (NEVILLE *et al.*, 1984; SCHANLER, 1995;).

A composição do LH varia de uma mãe para outra, de um período de lactação para outro e durante as horas do dia. As variações de mãe para mãe são afetadas por variáveis como idade materna, paridade, saúde e classe social, bem como idade gestacional (IG). Varia também de acordo com o estágio de lactação, podendo ser chamado de colostro, leite de transição e leite maduro (SCHANLER, 1995).

O colostro é secretado nos primeiros cinco dias após o parto, é espesso e amarelado pela alta quantidade de beta-caroteno. Seu volume é suficiente para satisfazer as necessidades do RN nesse período. Produzido por mães de RNT, fornece em média 54 kcal/dl e contém 2,9 g/dl de lipídios, 5,7 g/dl de lactose e 2,3 g/dl de proteína. Tem elevada concentração de IgA secretora e lactoferrina, linfócitos e macrófagos. O conteúdo de minerais também é alto sendo mais rico em sódio, potássio e cloretos do que o leite maduro (NEVILLE *et al.*, 1984; SCHANLER, 1995).

O leite de transição é aquele produzido entre o 5º e 15º dia de vida. Nesta fase o conteúdo de leite vai sofrendo modificações na sua concentração até atingir os valores médios do leite maduro (NEVILLE *et al.* 1984; SCHANLER, 1995).

O leite maduro tem volume e composição estáveis e fornece em média 70 kcal/dl, contém 2,9 a 3,4 g/dl de lipídios, 6,4 a 7,1 g/dl de lactose e 1,3 a 1,8 g/dl de proteínas. A quantidade de lipídios varia conforme o leite do início e final da mamada. O leite do final da mamada contém de uma e meia a três vezes maior quantidade de lipídios que o do início (NEVILLE *et al.*, 1984; SCHANLER, 1995).

As proteínas estruturais ou bioativas existentes no LH são espécies específicas. (NEVILLE *et al.*, 1984; SCHANLER, 1995). A qualidade da proteína (proporção caseína e soro) do LH é particularmente ajustada para o RNMBP. O LH contém 30% de caseína e 70% de soro, o que propicia melhor digestibilidade e esvaziamento gástrico mais rápido. A principal proteína do LH é uma alfa-lactalbumina.

Quanto à composição dos aminoácidos, o LH fornece menor quantidade de fenilalanina e tirosina, quando comparado com o fornecido pelo leite de origem bovina (LV). Os RNPT têm dificuldade em metabolizá-los e grande quantidade destes aminoácidos pode levar à letargia. Fornece também, quantidade maior de taurina que é importante para o desenvolvimento da retina e da estabilidade das membranas e tem uma boa relação entre cistina e metionina, importante porque os RNPT têm diminuição da ação da cistationase, e contém carnitina na quantidade recomendada para RNPT (GAULL *et al.*, 1977; RASSIN; GAULL; RAIHÄ, 1977; WHARTON *et al.*, 2004).

O conteúdo de lipídios do LH fornece aproximadamente 50% de calorias. A digestão e a absorção dos lipídios são facilitadas pela complexa organização do glóbulo de gordura, pelo tipo de ácidos graxos e pela presença de lipase estimulada por sais biliares (NEVILLE *et al.*, 1984; SCHANLER, 1995).

Os AGPICL, ácido araquidônico (AA) e ácido docosahexaenóico (DHA), derivados dos ácidos linoléico e linolênico, respectivamente, são encontrados no LH

e estão relacionados ao desenvolvimento cognitivo, visão e ao crescimento (MENA, 2008).

Os hidratos de carbono presentes no LH são lactose e oligossacarídeos. A lactose além de prover energia está relacionada à formação de flora bacteriana menos patogênica e a melhor absorção dos minerais. Os oligossacarídeos são importantes para a defesa do hospedeiro, porque sua estrutura imita a dos receptores antigênicos bacterianos específicos (SCHANLER, 1995).

1.3 Leite humano pré-termo

O leite produzido pela mãe de RNPT apresenta composição diferenciada em termos de aporte protéico energético e de constituintes imunológicos nas primeiras semanas de produção, quando comparados com o leite maduro. Nas primeiras quatro semanas o leite humano da mãe do pré-termo (LHPr) contém maior concentração de nitrogênio, proteína com função imunológica, lipídios totais, ácidos graxos de cadeia média, vitaminas, cálcio, sódio e energia que os de mães de RNT (SCHANLER; OH 1980; LEPAGE *et al.*, 1984; CONTRERAS; FLORES; CISNEROS, 1992).

O leite, quando proveniente da própria mãe do RN, oferece também proteção contra os patógenos do ambiente (SCHANLER; OH 1980). Em virtude das dificuldades morfofuncionais, os RNPT deverão receber o leite por sonda enteral, e para que todos os benefícios desse alimento sejam oferecidos aos RNPT, o leite deve ser de preferência cru, logo após a ordenha. Se não for oferecido em seguida, o leite deverá ser mantido sob refrigeração, em geladeira, entre 5 e 7 °C, por no máximo 12 horas. Após esse tempo, os volumes não utilizados deverão ser congelados e enviados ao banco de leite para serem submetidos à pasteurização ou descarte (NOVAK, 2002; HECK, 2007).

Todas essas medidas são necessárias para prevenir infecções, e demonstram a dificuldade, juntamente com o estresse materno, em se manter o aleitamento exclusivo in natura da mãe para seu filho, necessitando de utilização na maioria das vezes de leite de doadoras proveniente do banco de leite.

1.4 Leite humano de banco

O banco de leite humano é um centro especializado responsável pela promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno e execução de atividades de coleta, do processamento e do controle de qualidade para posterior distribuição.

Para o controle sanitário do leite ordenhado há necessidade de pasteurização e congelamento do leite o que interfere no conteúdo nutricional.

Ocorre a perda de 89% da viabilidade celular com perda progressiva da atividade bacteriostática com o congelamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Imunoglobulinas A (IgA), G (IgG) e M (IgM), lactoferrina, lisozima, componentes do complemento C3 e C4, aminoácidos e ácidos graxos são preservados ou muito pouco afetados por esse processo (GONÇALVES *et al*, 2007).

A pasteurização convencional por aquecimento altera significativamente os componentes antimicrobianos do leite. Durante o processo, está descrito uma perda de até 47% dos níveis de IgA, mais de 88% de perda de IgG, 41% a 47% de perda de lactoferrina e α -1-antitripsina, bem como a desnaturação de algumas proteínas e destruição da IgM. Há perda total dos componentes celulares do leite e também inativação da lipase estimulada por sais biliares. A destruição dessa enzima causa uma diminuição de 33% na absorção de lipídios do LH, diminuindo a quantidade de calorias ofertada pela dieta e predispondo a esteatorreia, quando elevadas quantidades de gordura são administradas. A lisozima e a lactoferrina parecem ser estáveis a esse tratamento (LIEBHAER *et al.*, 1977; WARDELL *et al.*, 1978; CLARK *et al.*, 1984; ALMEIDA; NOVAK, 1999; RECHTMA; LEE; BERG, 2006; CAMELO JR; MARTINEZ, 2008).

Toda manipulação que o LH sofre até que seja oferecido aos RNPT também torna a gordura instável em solução. A gordura torna-se mais aderente aos recipientes como, vidros de armazenamento, seringas ou frascos e a sonda. Estudos demonstram que as perdas de gordura podem atingir níveis próximos de 50% e para diminuir as perdas, o LH deve ser pré-homogeneizado antes de fazer parte da dieta de RNPT. Não há perdas de minerais que comprometam a utilização do leite humano de banco (LHB) (LIEBHAER *et al.*, 1977; WARDELL *et al.*, 1978; CLARK *et al.*, 1984; THOMAZ; GONÇALVES; MARTINEZ, 1999; ALMEIDA; NOVAK, 1999).

Quando não há LH ou o seu suprimento é inadequado, a alimentação de escolha é a fórmula para RNPT.

1.5 Fórmulas

As fórmulas são baseadas no conteúdo do LH e preparadas de maneira a atender as necessidades nutricionais requeridas pelo pré-termo estipuladas pelos comitês de nutrição. Devem conter 2,25 a 3,3 g de proteína para cada 100 kcal, derivadas do leite de vaca, com uma relação entre proteínas do soro e caseína, entre 70:30 ou 60:40 e uma mistura de ácidos graxos de cadeia longa e média, com suplementação de AGPICL, DHA e AA. Em relação aos minerais, devem conter maior quantidade de cálcio, fósforo, zinco do que o contido no LH para atender aos requerimentos desta população (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987; 1989; CPS-CON, 1995; KLEIN, 2002; EDMOND; RAJIV, 2006).

Algumas considerações sobre a utilização de LHP_r, LHB e fórmulas devem ser feitas para entendermos as recomendações atuais da melhor maneira de se atender os requerimentos nutricionais dos RNMB.

Estudos sobre a utilização de LHP_r, LHB e fórmulas vêm sendo realizados desde do início do Século XX. Greer, em 2001, revisou os principais estudos em nutrição de RNPT realizados neste século. Os principais autores cujos estudos provocaram mudanças nas condutas de neonatologistas e as décadas em que esses aconteceram, merecem ser lembrados e estão expostos na tabela 2.

A nutrição de RNPT tem sido estudada intensivamente desde a década de 1940, quando houve evidências de que nutrientes poderiam provocar alterações metabólicas no organismo dos recém-nascidos; a partir de então, surgiram muitas controvérsias sobre as necessidades de macro e micronutrientes e também divergências quanto ao aproveitamento do que é ofertado, principalmente quando são RNMBP ou RNEBP.

Tabela 2 – Linha do tempo: Nutrição de Recém-nascido Pré-termo durante o século XX †.

1900	<ul style="list-style-type: none"> • Conferências sobre cuidados com os “frágeis”; alimentação precoce com leite humano; popularização da alimentação por sonda gástrica (BERTHOD, 1887; BUDIN 1907).
1920	<ul style="list-style-type: none"> • Estabelecimento de unidades para prematuro Hospital Michael Reese, Chicago (HESS, 1922). • Publicação do primeiro livro destinado a tratamento RNPT. Defesa do uso do leite humano desde os primeiros dias por sonda gástrica (HESS, 1922).
1940	<ul style="list-style-type: none"> • Estudos do metabolismo respiratório permitiram a confirmação dos requerimentos energéticos de 120 kcal/kg/dia para o crescimento de RNPT (GORDON <i>et al.</i>, 1940). • A alimentação para RNPT e a administração de fluídos deve ser evitada até 96h de vida (HESS; LUNDEEN, 1941). • Leite humano mesmo com a adição de vitamina D não provê bom crescimento esquelético em RNPT (BENJAMIN <i>et al.</i>, 1943). • RNPT crescem mais rapidamente quando alimentados com fórmulas derivadas do leite de vaca semi-desnatadas em comparação com leite humano (GORDON <i>et al.</i>, 1947).
1950	<ul style="list-style-type: none"> • Promoção do uso de fórmula pelos benefícios em relação ao crescimento (LUNDEE; KUNSTADTER, 1958).
1960	<ul style="list-style-type: none"> • Nutrição Parenteral total usada pela primeira vez em RNPT (DUDRICK <i>et al.</i>, 1968). • Atribuição do ganho de peso, com o uso de fórmulas derivadas do leite de vaca, à retenção de água secundária a retenção de eletrólitos (BABSON; BRAMHALL 1969, KAGAN <i>et al.</i>, 1972). • Importância da qualidade de proteína, começo do novo interesse pelo aleitamento materno em RNPT (RAIHÄ <i>et al.</i>, 1976).
1970	<ul style="list-style-type: none"> • AAP define com ótimo suporte nutricional aquele que promove crescimento semelhante ao intra-uterino no terceiro trimestre de gestação (AAP, 1977). • Adiar a alimentação leva a alterações no desenvolvimento neurológico; preocupação com hipoglicemia, hipernatremia, hiperbilirrubinemia, e severa perda de peso em decorrência do adiamento da introdução de fluídos e nutrientes. Prevenção com administração precoce de fluídos/alimento (DAVIES, 1978).
1980	<ul style="list-style-type: none"> • Alimentar RNPT com o leite da própria mãe promove crescimento melhor que o leite maduro (GROSS, 1983). • Desenvolvimento de fórmulas especiais (acrécimo de proteína, minerais, vitaminas, triglicerídeos de cadeia média) para RNMBP (COOPER <i>et al.</i>, 1984, SCHANLER ; OH, 1985, GREER ; MC CORMICK, 1988). • Desenvolvimento de suplementos para o leite humano, porém fórmulas continuam a promover melhor ganho de peso (ATKINSON <i>et al.</i>, 1981; SCHANLER; GARZA, 1987).
1990	<ul style="list-style-type: none"> • Nutrição parenteral precoce torna-se padrão nos cuidados do RNMBP (AAP, 1998) • Ênfase no uso de leite humano da própria mãe; instituição da nutrição enteral mínima (SCHANLER <i>et al.</i>, 1999)

Fonte: Greer, FR. Feeding for premature infants in the 20th century. 2001. J Nutr 2001; 131:426-430.

O LH desde o início foi o preconizado para nutrir os RNPT, mas os achados de Gordon *et al.* (1940), de que estes necessitavam maior aporte calórico que RNT, e que o conteúdo do leite não supria as necessidades requeridas, fez com que acréscimos ao LH ou modificações do LV e utilização de fórmulas com proteína derivada do LV fossem estudados desde essa década.

A utilização de fórmulas lácteas com maior densidade protéico-calórica demonstra até a atualidade que proporciona crescimento mais rápido e tem diminuído a incidência de doença metabólica óssea por oferecer quantidade maior de cálcio e fósforo (QUIGLEY *et al.*, 2009).

O achado de Babson; Bramhall (1969), Kagan *et al.* (1972) citados por Greer (2001), de que o ganho de peso mais rápido com a utilização de fórmulas estava relacionado à retenção hídrica por aumento do conteúdo de eletrólitos foi pelos primeiros autores descartado ao controlar o teor de mineral contido nas dietas, mostrando a direta correlação do crescimento com a quantidade de proteína da fórmula (BABSON; BRAMHALL, 1969).

No entanto, as evidências de que distúrbios metabólicos estavam relacionados à maior quantidade de proteína com predomínio de caseína, fizeram com que o estudo de Raihä *et al.* (1976) se tornasse o marco para a valorização da qualidade de nutrientes, em especial as proteínas.

Atualmente, já está bem estabelecido que a quantidade e a qualidade protéica são imprescindíveis para o crescimento e desenvolvimento de RNMBP (ARSLANOGLU; MORO; ZIEGLER, 2006).

As proteínas suprem o neonato com aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais. Mesmo RNMBP estáveis clinicamente, recebendo grande quantidade de proteínas, estão suscetíveis a desenvolver alta concentração plasmática de fenilalanina, tirosina e metionina, em decorrência da imaturidade da atividade das enzimas cistationase e hidrolase (PALHARES *et al.*, 1990; EDMOND; RAJIV, 2006). Para RNPT, a oferta quantitativa e qualitativa precisa respeitar a imaturidade enzimática das vias de metabolização dos aminoácidos e da amônia, para se evitar a deficiência ou o excesso, considerando que concentrações

prejudiciais de um ou mais aminoácidos no sangue de uma criança pré-termo podem ocorrer sem qualquer evidência clínica (GAULL *et al.*, 1977). O perfil dos aminoácidos depende da qualidade da proteína ofertada que esta relacionada ao desenvolvimento neurológico em curto e longo prazo (RAIHÄ *et al.*, 1976; RASSIN *et al.*, 1977; GAULL *et al.*, 1977; POLBERG; AXELSON; RAIHÄ, 1990; PALHARES *et al.*, 1990; LUCAS *et al.*, 1992; LIEN, 2003; ARSLANOGLU; MORO; ZIEGLER; 2006; SANTOS *et al.*, 2007).

Os estudos de Lucas *et al.* (1992); Lucas *et al.* (1996); Morley, Lucas (1997) contribuíram para a afirmação de que determinados nutrientes oferecidos em determinados momentos da vida de um indivíduo estão relacionados com a programação das células para um determinado fenótipo futuro, fazendo com que a atenção voltasse ainda mais para a qualidade dos nutrientes ofertados e priorizasse o LH, também na alimentação de RNPT; tornando-o padrão ouro para a qualidade dos nutrientes para esta população.

O final da década de 90 e o início deste novo século vêm sendo marcados por pesquisas voltadas para avaliação detalhada dos nutrientes ofertados pelo LH, qualidade dos lipídios, conformação das proteínas e fatores interferentes da absorção e metabolismo. Tem-se evidenciado que mesmo com a adição de determinados nutrientes à fórmula, o LH ainda promove melhores resultados no aspecto do desenvolvimento (LUCAS *et al.*, 1992; LUCAS *et al.*, 1996; MORLEY; LUCAS, 1997; MENA, 2008; QUIGLEY *et al.*, 2009).

A AAP periodicamente reavalia os estudos em nutrição e emite sua opinião a respeito dos fatores estudados, e em 1997 enfatizou que o manejo nutricional utilizando LH traz benefícios para RNPT e essa posição foi reafirmada em 2005 (AAP, 1997; AAP, 2005).

Os benefícios do LH são ainda mais valorizados quando ofertados ao RNPT, principalmente em decorrência das propriedades imunológicas e anti-infecciosas, diminuição da incidência de enterocolite necrotizante e a menor gravidade desta; e quando o leite é da própria mãe do pré-termo há a vantagem da passagem de anticorpos contra patógenos específicos do ambiente em que ele se encontra (SCHANLER, 1995; OLIVEIRA; MYASHI, 2005).

Importantes vantagens quanto aos aspectos nutricionais do LH, além das expostas acima, são: a proteína é de melhor qualidade biológica, fornecendo aminoácidos na qualidade desejada e é de melhor digestibilidade; a gordura tem a sua digestão e absorção facilitada devido à complexa organização dos seus glóbulos, predomínio de AGPICL, derivados do ácido linoléico e linolênico e também por conter lipase estimuladora dos sais biliares (SCHANLER, 1995; CAMELO Jr ; MARTINEZ, 2005; SCHANLER, 2007).

A melhora no desenvolvimento e a de melhor desempenho visual, mesmo quando comparado com fórmulas enriquecidas com AGPICL, AA e DHA, evidenciam a superioridade dos nutrientes ofertados pelo leite humano (UAUY; BIRCH; BIRCH, 1990; LUCAS *et al.*, 1992; LUCAS *et al.*, 1996; MORLEY; LUCAS, 1997; MORO; MINOLI, 1998; MENA, 2008).

O problema na utilização do LH para alimentar RNPT é que a quantidade de nutrientes oferecidas pelo leite humano maduro, não supre os requerimentos nutricionais de RNMBP e o LHPr só oferece quantidade de nutrientes suficientes para o crescimento destes nas primeiras 4 semanas de vida, havendo necessidade de seu enriquecimento (tabela 3).

Segundo Schanler (2007), o LH não enriquecido pode não suprir quantidades suficientes de nutrientes por diversas razões: 1. As concentrações de diversos nutrientes, principalmente proteína e sódio, caem com a lactação; 2. As necessidades nutricionais não diminuem até que eles alcancem o termo, segundo a idade pós-menstrual; 3. O teor de determinados nutrientes (cálcio e fósforo) é muito baixo para atender as grandes necessidades do lactente pré-termo; 4. Motivos técnicos relacionados à coleta, conservação e distribuição do leite ao lactente também contribuem para menor quantidade de nutrientes disponíveis (gordura, vitamina C, vitamina A, riboflavina); 5. O lactente é alimentado por sonda, o que torna a alimentação *ad libitum* pouco provável; 6. Frequentemente há restrição de fluido para tratamento clínico; e 7. Evidência de que a alimentação de RNPT, com leite humano de banco de leite (LHB) ou de LHPr, após a 4ª semana, quando comparado com o uso de fórmulas, promove menor crescimento linear e menor mineralização óssea em RNPT.

Todas essas razões enfatizam o uso de suplementos compostos de multinutrientes, proteínas, minerais, vitaminas e elementos traço.

Tabela 3 – Comparação do conteúdo nutricional do Leite humano maduro de banco de leite e leite humano da mãe prematuro com os requerimentos nutricionais estabelecidos pelo consenso estabelecido em 1993.

Nutrientes	LM† Por 100 ml	LHPr† Por 100 ml	Consenso‡ Por 100 Kcal
Energia (kcal)	70,2-73,6	73,0 -76	120-165
Proteína (g)	1,3-1,8	1,5-2,1	2,5-3,16
Gordura (g)	2,9-3,4	3,2-3,6	3,6-7
Hidratos de carbono (g)	6,4-7,1	6,3-7,2	7-14
Sódio (mEq)	0,67-0,95	0,95-1,7	1,65-2,52
Potássio (mEq)	1,3-1,68	1,37-1,72	1,66-2,56
Cálcio (mg)	26,7-29,3	26,6-31,4	100-192
Fósforo (mg)	13,8-16,9	12,9-13,8	50-117
Manganês (µg)	1,4-2,8*	-	1,5-7,5
Cobre (µg)	57-73	63-83	100-125
Ferro (mg)	0,81-1,11	0,90 -1,1	1,7-2,5
Zinco (mg)	0,26-5,35	0,39-0,53	0,55-1,1

† Pereira GR, Barbosa NMM. Controversies in neonatal nutrition. *Pediatr Clin North AM.* 1986; 33 (1):65-89; LM – leite humano maduro, LHPr – leite humano pré-termo; ‡ Tsang RC, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S, Eds. *Nutritional needs of The Preterm Infants: Scientific and Pratical Gudielines.* Baltimore, Willians & Wilkins; 1993:296. * KLEIN CJ. Nutrient requirements for preterm infant formula. *J Nutr* 2002; 132: 1395 – 1577.

Os suplementos de LH vêm sendo estudados mais intensivamente a partir de 1977 e desde então se notou benefícios por fornecerem quantidades de nutrientes mais próximos do necessário, sem alterar as propriedades do LH (KASHIAP; SCHULZE; FORSYTH; 1990). A análise de estudos utilizando suplemento em pó ou em líquido e utilizando minerais, como cálcio e fósforo, isoladamente ou em conjunto com proteínas e os que utilizaram somente proteínas, evidenciou que há necessidade de enriquecimento de proteínas e de alguns minerais como cálcio,

fósforo, sódio, ferro, cobre e zinco (FOMON; ZIEGLER, 1977; SCHANLER; OH, 1985; RONNHOLM; PERHEENTUPPA; SIIMES, 1986). A quantidade desses minerais e a relação entre eles deve ser aquela que supra as necessidades para velocidade de crescimento com utilização de formulações que melhor sejam absorvidas, conforme as necessidades nutricionais de RNPT (BHATIA; RASSIN, 1988; KUSCHEL; HARDING, 2006).

A preocupação com injúrias a curta ou em longo prazo, fez com que a utilização de um suplemento que ofereça qualidade de aminoácidos e de ácidos graxos mais adequados, como os derivados do próprio LH, estejam sendo estudadas (MORO *et al.*, 1991; BOEHM *et al.*, 1993). Considerando as dificuldades práticas de se obter proteína homóloga, a proteína do LV é a frequentemente utilizada para o enriquecimento do LH, e vem promovendo o crescimento de RNMBP e RNEBP, próximo ao esperado (LIEN, 2003; SANDSTRÖM *et al.*, 2008).

Suplementos derivados do LH e, portanto, com proteína homóloga, têm sido estudados desde 1980. Lucas *et al.* (1980) produziu um suplemento do leite humano utilizando creme obtido por centrifugação do leite humano acrescido de proteína obtida por técnica de diálise e liofilização. Permitindo assim a utilização de frações de leite homólogo como suplemento. A partir deste estudo, outros autores passaram a utilizar destas técnicas para separação dos componentes do leite e a utilizá-los liofilizados ou na forma líquida como suplemento do LH (HAGELBER *et al.*, 1982; MORO *et al.*, 1989; RASCHKO *et al.*, 1989; POLBERG, AXELSON; RAIHÄ; 1990).

Mediante técnicas de lactoengenharia, está sendo fabricado um suplemento derivado do LH (Prolact +4, +6, +8, +10 e NeoPro[®] - Prolacta[®] Bioscience, EUA). Neste, as proteínas e a gordura do LH são concentradas em volumes, com menor quantidade de lactose, com adição de cálcio e fósforo e outros minerais. O produto líquido é adicionado ao LH conforme o conteúdo calórico desejado, 1 ml de Prolacta[®] fornece 0,7 calorias, 0,042 g de lipídeos, 0,012 g de proteína e 0,068 g de hidrato de carbono (YOUNG, 2009).

Mudanças na qualidade das proteínas derivadas do LV e acréscimos de aminoácidos aos suplementos demonstraram promover qualidade de aminoácidos

plasmáticos semelhantes a encontrada quando se oferece LH enriquecido com proteínas derivadas do próprio LH, porém encarecem o produto e a aquisição dos suplementos com a qualidade das proteínas do LH ou suplemento de origem homóloga torna-se inviável para os estabelecimentos públicos (BOEHM *et al*, 1987; MORO; MINOLI, 1998; LIEN, 2003; SANDSTRÖM *et al.*, 2008; YOUNG, 2009).

A evaporação a vácuo do LHB permite a concentração e aumento do conteúdo nutricional do LH. A evaporação de 30% do volume inicial do LH leva ao aumento de 38% na concentração de sódio, potássio, fósforo, cálcio, magnésio, proteína, gordura, lactose e redução média de 45% na concentração de IgA, sem alterações significativas da osmolaridade em relação ao leite sem processamento, permitindo o uso do leite concentrado como alimento para RNPT (SANTOS *et al.*, 2007; BRAGA; PALHARES, 2007).

Evaporação de 75% do LHB, maduro, levará ao aumento de 3 a 4 vezes do teor de sódio, cálcio, fósforo, proteína, lactose e gordura e poderá ser utilizado como alimento ou suplemento do LH se diluído 1:1 com água e retirado a lactose por meio de precipitação a frio (SANTOS; MARTINEZ, 1996).

Outro método utilizado para concentrar o leite humano é a liofilização. Segundo Nail *et al* (2002) a liofilização do leite humano permite ótima preservação de nutrientes, e a concentração permite que este possa ser utilizado como suplemento como proposto por Boehm *et al.* (1985), porém, o acréscimo de 6g de leite humano liofilizado em 100 ml de leite humano estudado por estes autores, provocou colestase em RNMBP, por sobrecarga do sistema hepático pelo provável excesso na oferta de lipídios.

Estes estudos mostram que a concentração do LH pode ser uma maneira de fornecer um suplemento homólogo, assim, analisando estas técnicas, houve a orientação para o desenvolvimento da metodologia para o preparo do suplemento derivado do leite humano proposta neste estudo.

Esta metodologia está baseada na pergunta: **Pode a modificação do LH por meio da retirada de gordura, evaporação, retirada da lactose e liofilização,**

quando utilizado como suplemento do leite humano, satisfazer as necessidades nutricionais do RNMBP?

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Manipular um preparado derivado do leite humano para ser utilizado como aditivo na alimentação do recém-nascido de muito baixo peso, e avaliar a tolerância gastrointestinal, o perfil bioquímico, e o crescimento dos recém nascidos de muito baixo peso alimentados com este suplemento.

2.2 Específicos

- a) Analisar a quantidade de hidratos de carbono, proteínas, lipídios, osmolalidade, conteúdo calórico, cálcio, fósforo, sódio, potássio, ferro, manganês, zinco e cobre, de amostras de leite humano acrescido do suplemento desenvolvido e compará-lo com o leite humano acrescido do suplemento FM85[®].
- b) Avaliar as características: sexo, idade gestacional, peso de nascimento, adequação ao peso de nascimento, início da nutrição enteral mínima, início da nutrição enteral exclusiva, volume total de dieta recebida, caloria total recebida, necessidade de ventilação mecânica de RNMBP alimentado com leite humano acrescido do suplemento desenvolvido e compará-las com os RNMBP alimentados com leite humano acrescido do suplemento FM85[®].
- c) Avaliar sinais clínicos de intolerância gastrointestinal com o uso do suplemento desenvolvido e do FM85[®].
- d) Avaliar o perfil bioquímico de RNMBP alimentados com leite humano acrescido do suplemento desenvolvido e compará-lo com o de RNMBP alimentados com leite humano acrescido do FM85[®], utilizando a dosagem sérica de ureia, creatinina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, albumina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, triglicérides, hematócrito e hemoglobina.

- e) Avaliar o crescimento: peso, comprimento e perímetro cefálico de RNMBP alimentados com leite humano acrescido do suplemento desenvolvido e compará-lo com RNMBP alimentados com leite humano acrescido do FM85[®].

3 MATERIAL E CASUÍSTICA

3.1 População

Por se tratar de estudo clínico e utilização de material biológico, essa pesquisa foi submetida à devida avaliação sendo aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário da Faculdade de Medicina (HU) (ANEXO A e B).

Após os pais ou responsáveis serem esclarecidos quanto à natureza do trabalho, consentirem e assinarem o termo de consentimento informado (APÊNCICE A), os RNMBP estáveis clinicamente, com peso de nascimento entre 700g a 1400 g e idade gestacional menor ou igual a 32 semanas, que não apresentavam má formação congênita, hemorragia periventricular, grau maior ou igual a 2, e que necessitavam de leite humano doado, foram locados aleatoriamente por sorteio prévio em 2 grupos:

LH+SH: recebeu LH acrescido de suplemento derivado do leite humano (SH), na proporção de 5,49 g%

LH+FM85[®]: recebeu LH acrescido de suplemento FM85[®], na proporção de 5 g%

Os RNMBP entraram nos grupos quando atingiram a oferta de 100 ml/kg/dia de leite humano exclusivamente por via enteral e foram acompanhados por 15 ± 2 dias.

O volume de leite suplementado por oferta, recebido a cada 3 horas pelos RNMBP de ambos os grupos, foi definido pelo protocolo do serviço e liberado pelo controle de microbiologia e qualidade do banco de leite do HU-UFMS.

Para a caracterização da população estudada foram analisadas as seguintes variáveis:

- a. Sexo

- b. Idade gestacional – registrada em semanas determinada por estimativa de acordo com: a última menstruação, dados de ultrassom ou exame neonatal pelo método de New Ballard (BALLARD; KHOURY; WEDIG, 1991). A idade gestacional definitiva foi considerada aquela calculada pela data da última menstruação ou pelo ultrassom fetal precoce, quando a diferença entre esta data e a determinada pelo exame do RN era inferior a uma semana. Se a diferença fosse maior que uma semana, era considerada a idade gestacional calculada pelo método de New Ballard realizada pelo médico assistente da criança.
- c. Peso de nascimento foi aferido em gramas pelo médico assistente e anotado em prontuário.
- d. Adequação do peso – Foi classificada utilizando a curva de crescimento intra-uterino de Alexander *et al.* (1996). Considerou-se como sendo adequados para a idade gestacional (AIG) os recém-nascidos com peso entre 10 e 90 percentil, pequeno para a idade gestacional (PIG), os com peso inferior ao percentil 10 e grande para a idade gestacional (GIG), os com peso superior ao percentil 90.
- e. Idade de início da nutrição enteral mínima.
- f. Idade ao atingir nutrição enteral exclusiva com leite humano no volume de 100 ml/kg/dia e ingresso nos grupos.
- g. Volume de dieta recebido diariamente, prescrito pelo médico assistente e liberado pelo banco de leite e ofertado pela enfermagem.
- h. Caloria total recebida de acordo com o volume prescrito e, recebido diariamente.
- i. Tolerância gastrointestinal, verificando os sintomas clínicos relacionados à alimentação como resíduo gástrico (volume maior que 20% do volume ofertado), vômitos, características das fezes.
- j. Necessidade de ventilação mecânica e dias em ventilação mecânica.
- k. Parâmetros bioquímicos – Ao ingressar nos grupos e semanalmente conforme a rotina do serviço de neonatologia, de cada criança foi colhida amostra de 1 ml de sangue para dosagem de ureia, creatinina, sódio,

potássio, cálcio, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, triglicerídeos, albumina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), hematócrito e hemoglobina.

I. Crescimento – O crescimento foi acompanhado por avaliação semanal de peso, comprimento e perímetro cefálico, sendo as aferições feitas pelo examinador a partir do momento em que os RNPT ingressaram nos grupos.

I. A avaliação ponderal foi realizada em balança eletrônica pediátrica (Filizola[®], Brasil) com capacidade de 15 kg, carga mínima de 125 g e divisões de 5 g. O peso foi aferido no período da manhã, antes da primeira refeição, com a criança despida. Os pesos foram registrados em gramas (g).

II. O comprimento foi aferido pela própria pesquisadora, posicionando o recém-nascido em decúbito dorsal, utilizando antropômetro (régua de madeira graduada em milímetros) em superfície rígida, com a extremidade fixa junto ao pólo cefálico e a parte móvel deslocada até a superfície plantar, evitando a flexão dos joelhos. Sempre com a ajuda de uma enfermeira treinada. Os valores foram registrados em centímetros (cm).

III. A medida do perímetro cefálico foi realizada com o uso de trena flexível inextensível, graduada em milímetros, sendo os valores anotados em cm. A trena foi ajustada à cabeça da criança, passando pela proeminência occipital e glabella.

IV. Velocidade média de crescimento por unidade de peso (VCU) ou velocidade relativa de ganho de peso em g/kg/dia, calculada utilizando a fórmula proposta por Martell, Gaviria, Behtzsky (1979).

$$\text{VCU} = \frac{\text{Velocidade por incremento (VCI)}}{\text{Valor medido em exame anterior}}$$

$$\text{VCI} = \frac{\text{Valor medido em uma idade} - \text{valor medido em idade prévia}}{\text{Período de tempo decorrido entre as idades}}$$

3.2 Preparo do Suplemento

Para análise do conteúdo nutricional e posterior utilização na dieta dos pacientes estudados foram avaliadas vinte amostras de 220 ml de LHB utilizadas para o preparo do suplemento homólogo.

O leite humano empregado foi ordenhado por meio de expressão manual em domicílio ou no banco de leite do HU da UFMS e doado por mães voluntárias, cujos filhos nasceram a termo, com período de lactação entre 2 meses e 1 ano e que obtiveram na análise de titulação de acidez (acidez Dornic) resultado ≤ 2 .

As amostras passaram por três fases de preparo, descritas a seguir:

3.2.1 Primeira fase – Retirada da gordura

A retirada da gordura foi feita com o emprego de uma desnatadeira modelo 18 GR com capacidade de 100 l/hora (Casa das Desnatadeiras, Brasil), figura 1. A desnatadeira gira em alta velocidade, submetendo o leite a uma elevada força centrífuga. Como a gordura tem uma densidade menor, fica próxima ao eixo da desnatadeira, sendo drenada por um pequeno cano, enquanto que, os outros componentes, mais pesados, são lançados às paredes e vão para o exterior pela outra saída. Há retenção em média de 150 ml de leite, nesse processo.

3.2.2 Segunda fase – Retirada da lactose

Os 70 ml restantes do processo de retirada de gordura, foram submetidos ao evaporador, (MARCONI MA 120i[®], Brasil) exposto na figura 2. O leite foi colocado em um balão parcialmente submerso em banho-maria, à temperatura média de 56 °C, controlada por termômetro graduado de 10 °C a 100 °C. Por ação do vácuo, a uma pressão de 62 a 63 cmHg, o leite entra em ebulição com conseqüente evaporação da água, e redução do volume inicial a aproximadamente 20 ml para concentração da lactose. Esse volume foi colocado em tubos cônicos de plástico e congelado a -20 °C, por 24 horas. Após esse período, as amostras foram submetidas à centrifugação a 4000 r.p.m. durante 20 minutos em centrífuga (SIGMA[®], Brasil) refrigerada a 4 °C.

Após centrifugação e formação do precipitado de lactose, as amostras foram aquecidas em banho-maria a 37 °C por tempo mínimo suficiente para o descongelamento para facilitar a retirada do sobrenadante, que foi transferido para um recipiente de vidro, utilizando pipeta Pasteur. O depósito formado foi desprezado (figuras 3 a 7).



Figura 1 - Desnatadeira modelo 18 GR.



Figura 2 – Evaporador MARCONI MA 120i®.



Figura 3 – Centrífuga com refrigeração SIGMA 3K30®.



Figura 4 – Tubo cônico de plástico mostrando o precipitado de lactose evidenciado pela cor branca.

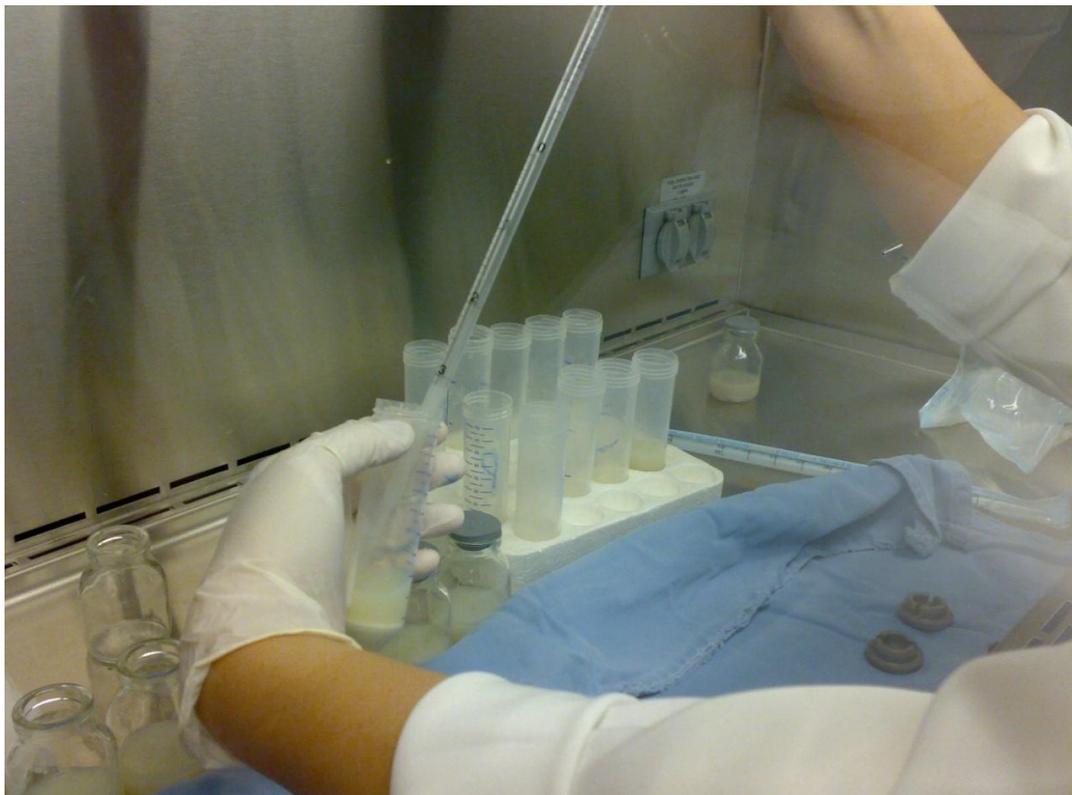


Figura 5 – Transferência do leite humano após precipitação da lactose para os recipientes de vidro.

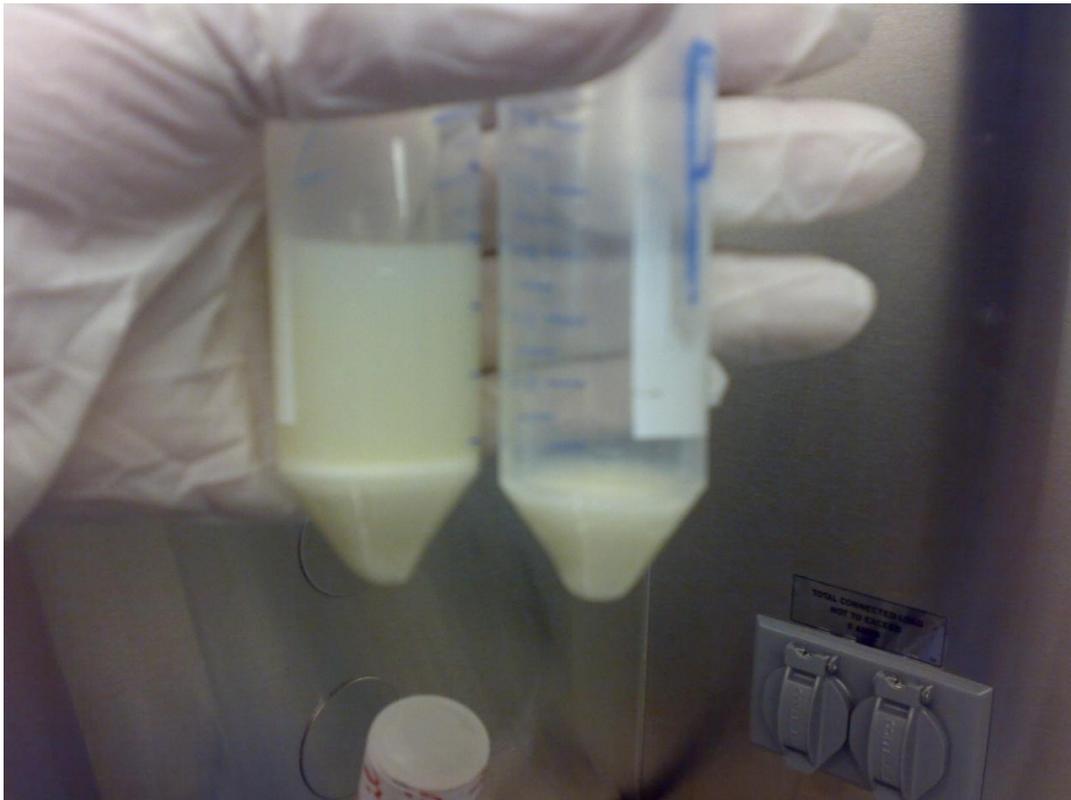


Figura 6 – Tubos cônicos antes e após a retirada do sobrenadante.



Figura 7 – Recipientes de vidro contendo leite humano, após a retirada da lactose.



Figura 8 – Manipulação de amostras em capela de fluxo laminar (LABCONCO®).

3.2.3 Terceira fase – Liofilização

O conteúdo restante do processo de retirada da lactose foi transferido para recipientes de vidro e foi congelado novamente a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e posteriormente colocado na câmara de vácuo do liofilizador de bancada EDWARDS® (Figura 9). O processo de liofilização promove a desidratação do leite por sublimação. Para tal, as amostras congeladas são submetidas a vácuo. O aumento gradativo da temperatura, com a diminuição da pressão circunvizinha permite que a água congelada presente no leite passe diretamente da fase sólida a gasosa.

Após 48 horas, as amostras foram retiradas do liofilizador e enviadas ao banco de leite para serem adicionadas a 100 ml de pool de LH, pasteurizadas e submetidas à análise microbiológica. O pool de LH utilizado foi constituído de leite de doadoras diferentes, obedecendo aos mesmos critérios do leite doado para o preparo do suplemento homólogo. Para comparação, 100 ml do mesmo pool de LH foram acrescidos de 5 g de FM85®.

Os recipientes de vidro utilizados para a fase de liofilização foram pesados em balança de precisão, vazios e antes e após a liofilização do leite para analisarmos a média da quantidade de pó formada que foi utilizada como suplemento do LH, chamado a partir de então de suplemento homólogo (SH).



Figura 9 – Liofilizador (EDWARDS®).

Para se eliminar possíveis contaminantes do material utilizado na coleta e armazenamento das amostras, foi realizado processo especial de lavagem, baseado no “Standard methods for the examination of water and wastewater”, que consta das seguintes operações:

- Lavagem dos recipientes, vidros e plásticos, inicialmente em água corrente
- Tratamento em EXTRAN neutro a 2%, por 24 horas
- Enxágue em água deionizada, no mínimo dez vezes
- Tratamento com ácido nítrico 30%, por 24 horas
- Enxágue em água deionizada, no mínimo dez vezes
- Secagem em estufa a 40 °C

Todo material foi tampado e guardado em recipiente plástico fechado até a sua utilização.

O manuseio do material foi realizado com luvas plásticas estéreis, para evitar contaminação.

3.3 Análise nutricional

Para a análise da quantidade de hidratos de carbono, proteínas, lipídios, cálcio, fósforo, sódio, potássio, ferro, manganês, cobre, zinco, osmolalidade e conteúdo calórico nas amostras de LH com SH e FM85[®], foram utilizadas as técnicas, obedecendo as normas analíticas publicadas pelo Instituto Adolfo Lutz (1985), detalhadas a seguir repetidas em triplicata:

3.3.1 Determinação de Hidratos de carbono

Para determinar o conteúdo de hidratos de carbono das amostras, foi utilizada a técnica de formação de glicídios redutores, que necessita dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Balão volumétrico de 100 ml, pipetas volumétricas de 10 ml, pipeta graduada de 2 ml, frasco Erlenmeyer de 300 ml, funil de vidro, papel de filtro, balão de fundo chato de 300 ml, bureta de 25 ml, chapa aquecedora, garra de madeira.

Reagentes – Solução de sulfato de zinco a 30% m/v, solução de ferrocianeto de potássio a 15% m/v, solução de Fehling tituladas.

Para o desenvolvimento do procedimento, transfere-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 10 ml da amostra para um balão volumétrico de 100 ml, adiciona-se 50 ml de água, 2 ml da solução de sulfato de zinco a 30% e 2 ml da solução de ferrocianeto de potássio a 15%, misturando bem após cada adição. Deixa-se sedimentar durante 5 minutos e após, completa-se o volume com água e agita-se. A solução é filtrada em filtro de papel, em um frasco Erlenmeyer, de 300 ml. O filtrado deverá estar límpido.

Em um balão de fundo chato de 300 ml, transfere-se 10 ml de cada uma das soluções de Fehling tituladas e adiciona-se 40 ml de água, aquecendo até a ebulição, em chapa aquecedora. Transfere-se o filtrado para uma bureta de 25 ml e adicionam-se as gotas, sobre a solução do balão em ebulição e com a ajuda das garras de maneira agita-se sempre, até que esta solução mude de coloração azul à incolor (no fundo do balão deverá ficar um resíduo vermelho tijolo).

Para o cálculo da quantidade de glicídios redutores formados, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{Glicídios redutores em lactose} = \frac{V \times 0,0068 \times 100}{L \times V}$$

$$L \times V$$

0,068 = nº de ml de g de lactose que corresponde a 10 ml de solução de Fehling

V = nº de ml da solução da amostra, gasto na titulação

L = nº de ml da amostra

V = nº de ml da diluição da amostra (100 ml)

O resultado é expresso em g/dl.

3.3.2 Determinação de proteínas

Para determinação das proteínas foi utilizado a quantificação do nitrogênio protéico pelo método de micro Kjeldahl, que necessita dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Tubos de digestão micro Kjeldahl, Erlenmeyer de 125 ml, pipetas graduadas de 10 ml, proveta de 20 ml, Bureta de 25 ml com divisão de 0,05 ml, balança analítica, destilador micro Kjeldahl.

Reagentes – Mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio, 1:1, ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado, ácido bórico (solução saturada), ácido clorídrico 0,02 (normal) N com fator de correção, indicador vermelho de metila e azul de metileno (vermelho de metila 0,2% alcoólico + azul de metileno 0,2% alcoólico

2:1), hidróxido de sódio (NaOH) + tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) (60 g de NaOH + 5 g de Na₂S₂O₃ q.s.p. 100 ml).

O procedimento é realizado em três etapas:

Digestão

Pesa-se 50 a 60 mg de amostra finamente pulverizada em papel manteiga e sobre a amostra, acrescenta-se 2 g da mistura catalítica. Coloca-se a amostra envolvida no papel, no tubo de digestão. Acrescenta-se 3 ml de H₂SO₄ concentrado e leva-se ao aquecedor elétrico dentro da capela por 40-45 minutos.

Destilação

Após o esfriamento da amostra do tubo de digestão, transfere-se cuidadosamente com auxílio de água destilada a amostra para o aparelho de destilação. Na extremidade do condensador, coloca-se um Erlenmeyer com 5 ml de solução saturada de ácido bórico e 3 gotas de indicador vermelho de metila + azul de metileno. Completa-se com água destilada, o nível do balão gerador de vapor e aqueça a ebulição. Adiciona-se através de funil, 8-10 ml da mistura NaOH + Na₂S₂O₃ sobre a amostra e fecha-se o funil. A chama branda deve ser mantida até a viragem do indicador de roxo para verde. Destila-se 50 ml.

Titulação

Titula-se o destilado do Erlenmeyer com Bureta de 25 ml com graduação de 0,05 ml até a cor voltar a roxo, para tal utiliza-se a solução de ácido clorídrico (HCl) 0,02 N . A solução deve ser então aquecida a 70 °C e se voltar a cor verde acrescenta-se uma gota de HCl. Repete-se a operação até estabilização da cor.

Para o cálculo do conteúdo protéico da amostra utilizam-se os seguintes conhecimentos:

- a) Pela reação $\text{NH}_3 + \text{HCl} = \text{NH}_4\text{Cl}$, verifica-se que 0,0001g de hidrogênio (H⁺) (1ml da solução de HCl 0,1 N) reage com 0,0014g de N;

- b) A molécula de proteína possui de 16 a 17,5% de nitrogênio deduz-se que 1 g de nitrogênio corresponde a 6,25 a 5,74 g de proteína. O fator universal é 6,25 quando a proteína é desconhecida ou trata-se de mistura de várias proteínas;

Para o cálculo da quantidade de proteína utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{Proteína g/dl} = \frac{(V_a - V_b) \times 0,02 \times f_c \times 14,007 \times 6,25 \times 100}{(a)}$$

V_a = volume de HCl 0,02 N gastos na titulação da amostra

V_b = volume de HCl 0,02 N gastos na titulação do branco

0,02 = normalidade na solução de HCl

f_c = 14,007 = fator de conversão do nitrogênio

6,25 = fator de conversão da proteína

(a) = amostra analisada em mg

Como as amostras estão na forma líquida, deve-se utilizar a fórmula abaixo para o cálculo da quantidade, em miligramas, da proteína contida na alíquota:

$$\text{mg de proteína na alíquota} = (V_a - V_b) \times f_c \times 0,2802 \times 6,25$$

O resultado é expresso em g/dl.

3.3.3 Determinação de lipídios

Para a determinação dos lipídios nas amostras analisadas foi utilizado o método de Gerber que necessita dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Lactobutirômetro de Gerber, pipeta volumétrica de 11, 10 e 1 ml, termômetro graduado de 0 a 100 °C, centrífuga de Gerber, pera de borracha, banho-maria.

Reagentes - Ácido sulfúrico (D=1,820-1,825), álcool amílico (D=0,815) isento de gordura.

Transfere-se 10 ml de ácido sulfúrico para um butirômetro de Gerber, adiciona-se lentamente 11 ml da amostra (sem molhar inteiramente o gargalho do butirômetro com tecido, a reação é fortemente exotérmica). Após, centrifuga-se o conteúdo do butirômetro a 1200 r.p.m. durante 10 minutos. Leva-se para um banho de água a 65 a 70 °C por 5 a 10 minutos, com rolha para baixo. Retira-se então o butirômetro, mantendo a posição vertical e maneja-se a rolha para colocar a camada amarela claro, transparente (lipídios) dentro da haste graduada do butirômetro.

Faz-se a leitura no menisco inferior da parte graduada do butirômetro. O número de ml ocupado pela camada oleosa corresponde diretamente à porcentagem de lipídios, sendo expresso em g/dl.

3.3.4 Determinação do cálcio

O cálcio existente nas amostras é determinado no resíduo incinerado (cinzas).

Para a formação do resíduo incinerado utilizam-se os seguintes materiais: balança analítica, cápsula de porcelana, pipeta volumétrica de 20 ml, banho-maria, chapa aquecedora, mufla, dessecador com sílica-gel, pinça de metal.

Transfere-se, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 20 ml da amostra para uma cápsula de porcelana. Evapora-se em banho-maria até a secagem. Carboniza-se cada amostra em chapa aquecedora na capela e incinera-se em mufla a 540 ± 10 °C, pelo período aproximado de 4 horas. O resíduo deverá ficar branco ou ligeiramente acinzentado, caso contrário, resfria-se as amostras, adicionando 0,5 ml de água, e repete-se o procedimento.

Resfria-se em dessecador e pesa-se cada amostra.

Para o cálculo do resíduo incinerado que será utilizado para a quantificação mineral, utiliza-se a seguinte fórmula:

$\frac{100 \times p}{v} = \text{resíduo por incineração (cinzas) por cento m/v}$

(a)

p = n° de g de resíduo

(a) = n° de ml da amostra

Para a determinação do cálcio nas cinzas são necessários os seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Balança analítica, papel filtro, pipeta graduada 1, 10 ml, centrífuga, frasco volumétrico 100 ml, espectrofotômetro.

Reagentes – Solução de hidróxido de amônio (NaOH) a 50%, solução de bromocresol verde, solução de isopropanol a 50%, solução de ácido clorânico, carbonato de cálcio, solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 5%.

Pesa-se exatamente 1,1 g de ácido clorânico e dissolve-se em 10 ml de NaOH contendo 1N, completa-se o volume para 100 ml com água desmineralizada. O pH da solução deverá estar entre 3,5 e 11. Se o pH for superior a 11, adiciona-se 0,1 g de ácido clorânico. Filtra-se a solução.

Para fazer a solução padrão de cálcio (100 µg /ml), pesa-se exatamente 0,249 g de carbonato de cálcio (CaCO₃) e transfere-se para um frasco volumétrico de 100 ml. Adiciona-se 10 ml de ácido clorídrico (HCl) a 10%, e agita-se o frasco até que todo CaCO₃ esteja dissolvido. Completa-se com água desmineralizada.

Adiciona-se por intermédio de uma pipeta, 1 ml da solução de cinza em tubo de centrífuga de 15 ml. Colocam-se algumas gotas da solução de bromocresol verde e goteja-se a solução de hidróxido de amônia até a mudança da cor. Adiciona-se 1 ml da solução de ácido clorânico. Completa-se com água, para 10 ml. Deixar em repouso por 30 minutos. Após esse tempo, centrifuga-se os tubos por 10 minutos a 200 r.p.m. Retira-se, cuidadosamente o sobrenadante. Lava-se o precipitado do cloranilato de cálcio formado com 5 ml da solução de isopropanol a 50%. Centrifuga-se novamente. Caso seja necessário, repete-se a operação de lavagem do precipitado. Adiciona-se 5 ml da solução de EDTA a 5%. Agita-se até a completa dissolução do precipitado.

Prepara-se concomitantemente um branco e os padrões, contendo 100, 200, 400 e 600 µg de cálcio. Fazem-se as leituras das absorbâncias em

espectrofotômetro, no comprimento de onda de 520 nm, acertando a marca do zero com o branco.

O cálculo do conteúdo de cálcio das amostras é feito relacionando as absorvâncias encontradas com aquelas obtidas com as soluções padrão.

Calcula-se para 100 g de cinza, 100 g de alimento seco e 100 g de alimento integral. Sendo o resultado expresso em mg/dl.

3.3.5 Determinação de fósforo

Para determinação do fósforo nas amostras são utilizados os seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Balança analítica, papel filtro, pipeta graduada 1, 10 ml, centrífuga, frasco volumétrico 10, 50, 100 ml, tubos de ensaio, espectrofotômetro.

Reagentes – Solução de ácido sulfúrico contendo 10 N, solução de molibdato de amônia a 2,5%, solução redutora, fosfato ácido de sódio, ácido clorídrico, sulfito de sódio, ácido 1,2,4 aminonaftolsulfônico, bissulfeto de sódio .

Para o preparo da solução de molibdato de amônia, dissolve-se 2,5 g de molibdato de amônia em 30 ml de solução de ácido sulfúrico a 10 N e após, adiciona-se 100 ml de água destilada.

Para o preparo da solução redutora, pesa-se 0,2 g de ácido 1,2,4 aminonaftolsulfônico + 1,2 do bissulfeto de sódio e 12 g de sulfito de sódio. Mistura-se bem e guarda-se em frasco bem fechado. Conservação indefinida. No momento de usar, prepara-se uma solução de 1,3 g dessa mistura para 50 ml de água.

Para o preparo da solução padrão de fósforo, pesa-se 0,458 g de fosfato de sódio (Na_2HPO_4) e dissolve em cerca de 50 ml de água destilada. Completa-se o volume para 100 ml. Cada ml desta solução conterá 1mg de fósforo.

Para a dosagem do conteúdo de fósforo nas amostras, dissolve-se 400 mg de cinza (preparada conforme o descrito para determinação de cálcio) em 10 ml de ácido clorídrico, adicionando, se necessário, gotas de ácido nítrico (HNO_3) e

aquecendo para facilitar a dissolução. Transfere-se 1 ml desta solução para um balão volumétrico de 10 ml. Completa-se o volume com água destilada. Transfere-se 1 ml desta solução para tubo de ensaio. Adiciona-se então 0,2 ml de molibdato de amônia a 2,5% e 0,4 ml da solução redutora. Completa-se o volume para 10 ml com água destilada. Agita-se e deixe à temperatura ambiente por 10 minutos, para completo desenvolvimento de cor. Faz-se a leitura das amostras no espectrofotômetro a 660 nm.

Prepara-se concomitantemente uma curva padrão contendo 10, 20, 40 e 60 µg de fósforo.

Para o cálculo, relaciona-se a absorbância obtida na amostra com aquelas da curva padrão. Os cálculos são feitos para 100 g de cinza, 100 g de alimento seco e 100 g de alimento integral. Sendo o resultado expresso em mg/dl.

3.3.6 Determinação de sódio e potássio

Para a determinação de sódio e potássio nas amostras são necessários os seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Cubetas de plásticos, pipeta de vidro, fotômetro de chama.

Reagentes – Solução padrão de sódio e potássio.

Dilui-se a amostra e a solução padrão de sódio e potássio em água destilada na proporção de 1:200 partes. Liga-se o fotômetro de chama e ajusta-se o compressor para 30 a 40 baries. Liga-se o gás. Zera-se o aparelho com água destilada e calibra-se o aparelho, com a solução padrão diluída, repetindo o procedimento até que o aparelho mantenha-se constante na concentração da solução padrão. Aspira-se então as amostras, e a cada 5 a 6 amostras repete-se a calibração. O resultado encontrado é expresso em mEq/l.

3.3.7 Determinação de ferro

Para determinação do ferro nas amostras estudadas, há necessidade dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Evaporador, balança analítica, balão volumétrico 50, 100 ml, pipetas 1,10 ml, espectrofotômetro.

Reagentes – Solução de tiocianato de potássio a 10%, ácido nítrico concentrado, ácido sulfúrico concentrado, ácido clorídrico 1 N, ácido clorídrico 3 N, ácido clorídrico 50%, solução estoque de ferro, solução padrão de ferro, sulfato de ferro amoniacal.

Para o preparo da solução estoque de ferro 1, pesa-se 0,8628 g de sulfato de amônia férrico ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) e adiciona-se 20 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado para dissolver. Completa-se o volume para 100 ml com H_2O destilada. Cada ml irá conter 10 μg de ferro.

Para o preparo da solução padrão de ferro, diluir 10 ml da solução estoque em 100 ml de água destilada. Cada ml irá conter 10 μg de ferro.

Para o preparo da solução estoque de ferro 2, dissolve-se 100 mg de ferro puro em 5 ml de ácido clorídrico (HCl) a 50%. Evapora-se até secar e após, adiciona-se 5 ml de HCl 3 N para dissolver o resíduo. Transfere-se a solução para um balão volumétrico de 100 ml. Completa-se o volume com água desmineralizada. Esta solução conterá 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de Fe.

Para o preparo da solução padrão 2, dilui-se 10 ml da solução estoque 2 em 100 ml de água destilada. Cada ml conterá 10 μg de ferro.

Prepara-se a amostra dissolvendo 400 mg de cinza (preparada conforme o descrito para determinação de cálcio) em 10 ml do HCl 1 N. Caso seja necessário, adicionam-se gotas de ácido nítrico (HNO_3) concentrado e aqueça para facilitar a dissolução. Transfere-se a solução para um balão volumétrico, completando com água destilada para um volume de 50 ml. Prepara-se, concomitante, uma curva padrão, utilizando as soluções padrão, contendo 10, 20, 40 e 60 μg de ferro.

Para a leitura das absorbâncias, ajusta-se o comprimento de onda em 520 nm, ajusta-se o zero com o branco. Calcula-se o teor de ferro em 100g de cinzas, 100g de alimento integral e 100g de alimento dessecado. Sendo o resultado expresso em mg/dl.

3.3.8 Determinação de manganês

Para a determinação do manganês (Mn) há necessidade dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Balança analítica, balão volumétricos 25, 50,100 ml, pipetas 1 ml, espectrofotômetro.

Reagentes - solução de ácido nítrico (HNO_3) a 30%, ácido fosfórico xaroposo, solução estoque de sulfato de manganês (MnSO_4), solução padrão de Mn, metaperiodato de potássio (KIO_4).

Para o preparo da solução estoque de MnSO_4 dissolve-se 0,307 g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em água em 100 ml de água destilada.

Para o preparo da solução padrão de Mn, dissolve-se a solução estoque em 100 ml de água destilada. Cada ml dessa solução conterá 0,1 mg de manganês.

Para a análise do Mn nas amostras, pesa-se 500 a 800 mg de cinza (preparada conforme o descrito para determinação de cálcio) e dissolve em 25 ml do HNO_3 a 30%. Adiciona-se 2 ml de ácido fosfórico xaroposo. Aqueça a ebulição. Adiciona-se cuidadosamente, evitando projeção devido à ebulição, porções de KIO_4 até completo desenvolvimento da cor púrpura do permanganato. O desenvolvimento da cor é completo quando a adição de nova porção de KIO_4 não provocar intensificação da cor (cerca de 0,5 g). Manter o aquecimento por 5 minutos, após resfriar e completar para 100 ml com água destilada. Caso a cor seja pouco intensa, completar para 25 ou 50 ml. Prepara-se paralelamente um branco e a curva padrão de manganês.

Para o preparo da curva padrão de manganês, segue-se o mesmo procedimento acima, usando a solução padrão de manganês. Utiliza-se 2 ml, 4 ml, e 6 ml da solução padrão de Mn, cujos pontos da curva corresponderão a 0,2; 0,4 e 0,6 mg de Mn, respectivamente.

Realiza-se a leitura das amostras em espectrofotômetro, ajustando o comprimento de onda para 535 nm, acertando o zero com o branco. Relaciona-se o

teor de manganês para 100 g de cinza, 100 g de alimento seco e 100 g de alimento integral.

3.3.9 Determinação de zinco e cobre

Para análise desses elementos traço, deve-se realizar a digestão química das amostras de leite conforme a metodologia proposta por Moura, Melnikov (2006).

Para a determinação dos elementos traço há necessidade dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Balança analítica, tubos ensaio 40 ml, bureta graduada, banho-maria, capela de exaustão, grade de cobre, alça de vidro, balão volumétrico 25 ml, espectrofotômetro de absorção atômica.

Reagente – Ácido nítrico

Devem-se identificar as amostras de 1 a 20, conforme o tipo de suplemento utilizado. Pesa-se 4 g de leite das amostras em balança analítica e colocado-as em tubo de ensaio com capacidade para 40 ml. Adiciona-se 12 ml de ácido nítrico 65% PA contido em uma bureta graduada. Essas amostras irão adquirir a coloração do ácido nítrico (amarelo), porém turvo.

Devem-se manter os tubos contendo as amostras de 1 a 20 em banho-maria a 80 °C, durante 60 minutos, em capelas com alta capacidade de exaustão. Para garantir o aquecimento uniforme, no fundo do receptáculo, coloca-se uma grade de cobre. No início do aquecimento, começa a ocorrer o desprendimento de borbulhas do monóxido nitroso, que ao reagir com o oxigênio do ar, se converte em vapores de cor marrom do dióxido (cor acastanhada). Ocorre o clareamento paulatino das amostras até ficar amarelo-citrino, cor das proteínas, após nitrificação. A digestão estará finalizada quando não se desprender mais vapores de coloração marrom.

Extrai-se o glóbulo de gordura resultante desse processo, utilizando uma alça de vidro.

Após o resfriamento até a temperatura ambiente, utilizando um funil de vidro, transferir as amostras para balões volumétricos de 25 ml, enxágua-se os tubos de ensaio e funis com água miliequivalente, usada para completar o volume.

Analisa-se as amostras por aspiração direta dos balões volumétricos, dosando o zinco e cobre pelo método de espectrofotometria de absorção atômica (Perkin-Elmer Analyst 100[®]), obtendo-se o resultado em mg/dl.

3.3.10 Determinação da osmolalidade

Para determinação da osmolalidade, segue-se o método de osmometria por congelamento. Para a determinação das osmolalidade há necessidade dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Tubos apropriados para osmômetro, Osmômetro Advanced[®].

Reagentes – Solução padrão 100 mOsm/KgH₂O, solução padrão 500 mOsm/KgH₂O.

A determinação das osmolalidades das amostras foi obtida a partir da colocação de 300 µl das amostras em tubo apropriado para o osmômetro.

Para a leitura das amostras, o osmômetro foi calibrado, utilizando as soluções padrão, uma contendo 100 mOsm/KgH₂O e a outra 500 mOsm/KgH₂O. A faixa de leitura usada foi de 0 a 3000 mOsm/KgH₂O. O valor de leitura dá diretamente em mOsm/KgH₂O.

3.3.11 Determinação do conteúdo calórico

O cálculo das calorias é baseado na quantidade de hidratos de carbono, proteínas e lipídios contidos nos leites suplementados. Para cada 1 g de hidrato de carbono e proteína têm-se 4 calorias e para 1 g de lipídio 9 calorias de acordo com a fórmula de Atwater, recomendada pela Organização Mundial de Saúde (FAO, 2003).

3.4 Análise Estatística

A comparação entre os grupos:

- LH+SH: RNPT que receberam LH acrescido do suplemento derivado do leite humano (SH);
- LH+FM85[®]: RNPT que receberam LH acrescido do suplemento FM85[®].

Em relação à comparação das variáveis mensuradas de macronutrientes, osmolalidade, conteúdo calórico e de minerais nas diferentes amostras de leite, foi realizada por meio do teste paramétrico t'-student pareado.

Os dados referentes ao estudo da amostra populacional em relação ao sexo, adequação do peso de nascimento e uso de ventilação mecânica foi realizada análise percentual.

Para a comparação da idade gestacional, peso de nascimento, início da nutrição enteral mínima, início da nutrição enteral exclusiva, volume de dieta total recebido, quantidade de caloria total recebida, foi realizada por meio do teste paramétrico t'-student pareado.

Para a comparação dos dados bioquímicos entre os dois grupos estudados, em cada RNMBP, foi feita uma dosagem no momento de ingresso da alimentação referida e outra dosagem no final do acompanhamento dos RNMBP. Para isso usou-se o teste paramétrico t'-student pareado em cada um dos dados colhidos.

De acordo com dados antropométricos dos RNMBP, foi avaliado o crescimento em peso, comprimento e perímetro cefálico. Para o ganho (medida final – medida inicial), foi realizado o teste paramétrico t'-student pareado para as três variáveis.

Foram realizadas três medidas, de cada um dos dados supracitados. A comparação entre as três medidas (primeira, segunda e terceira) colhidas semanalmente, foi realizado pelo teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas com pós teste de Tukey.

O teste utilizado para a análise geral dos resultados foi o ANOVA de 6 vias de medidas repetitivas, variáveis independentes: grupo experimental (SH e FM85[®]), sexo, tamanho (PIG/AIG), ventilação mecânica, RNMBP e RNEBP e medida de

análise antropométrica. Este teste foi utilizado para cada variável dependente do estudo: peso, comprimento e perímetro cefálico.

A análise estatística foi realizada usando a média (\bar{X}) e o erro padrão da média (EPM) para todos os dados ($\bar{X} \pm \text{EPM}$) utilizando-se o Microsoft Excel 2003 para planilhamento dos dados e o “software” SigmaStat para Windows[®], na versão 2.0. Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de gráficos e tabelas. Foi considerado como diferença significativa o resultado de $p < 0,05$. (SHOTT, 1990).

4 RESULTADOS

4.1 Análise do conteúdo nutricional

Para a comparação entre as variáveis mensuradas nos dois grupos foi realizada por meio do teste paramétrico t'student pareado, nas diferentes amostras de leite a análise da quantidade de macronutrientes, hidratos de carbono, proteínas, lipídios, osmolalidade, conteúdo calórico e dos minerais, cálcio, fósforo, sódio, ferro, manganês, zinco, cobre, respectivamente existentes em cada amostra dos dois grupos de um mesmo pool de leite humano acrescido do suplemento preparado SH ou FM85[®]. Os resultados referentes estão ilustrados nas tabelas 4 e 5 e descritos a seguir.

Tabela 4 – Comparação dos macronutrientes, hidratos de carbono, proteínas, lipídios, osmolalidade e valor calórico das amostras de 100 ml de leite humano com suplemento homólogo e FM85[®].

CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS	LH + SH	LH + FM85 [®]	"p"
	X±EPM	X±EPM	
Hidrato de carbono (g/dl)	7,25±0,25	10,06 ±0,05	0,003 †
Proteína (g/dl)	2,38±0,03	1,96±0,01	< 0,0001 †
Lipídio (g/dl)	3,75±0,16	3,73 ± 0,07	0,96
Osmolalidade (mosmol/KgH ₂ O)	412,47±5,99	431,00 ±0,50	< 0,02 †
Conteúdo calórico (Kcal/dl)	72,27±2,56	81,65± 0,87	<0,0001

LH – Leite humano; SH – Suplemento homólogo; X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; † Diferença significativa entre as amostras – valor p < 0,05.

Tabela 5 – Comparação dos minerais, cálcio, fósforo, sódio, potássio, ferro, manganês, zinco e cobre, das amostras de 100 ml de leite humano acrescidas de suplemento homólogo e FM85[®].

MINERAIS	LH+SH X±EPM	LH + FM85 [®] X±EPM	“p”
Cálcio (mg/dl)	44,75±1,21	79,37± 0,34	<0,001†
Fósforo (mg/dl)	23,28±0,95	55,97±0,18	<0,0001 †
Sódio (mEq/l)	14,40± 0,061	20,30± 0,033	<0,001 †
Potássio (mEq/l)	15,10±0,026	16,00±0,009	0,03 †
Ferro (mg/dl)	0,18±0,01	0,20±0,00	0,75
Manganês (mg/dl)	0,02±0,003	0,02±0,0006	0,75
Zinco (mg/dl)	0,21±0,007	0,63±0,02	0,0001†
Cobre (mg/dl)	0,16±0,01	0,05±0,006	0,0008†

LH – Leite humano; SH – Suplemento homólogo; X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; † Diferença significativa entre as amostras – valor p < 0,05.

4.1.1 Hidrato de carbono

Nas 20 amostras de pool de leite humano de banco acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de hidrato de carbono encontrada foi de 7,25±0,25. Enquanto que a média e erro padrão da média de hidrato de carbono encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de 10,06±0,05. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, p=0,003.

4.1.2 Proteína

Nas 20 amostras de pool de leite humano de banco acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de proteína encontrada foi de 2,38±0,03. Enquanto que a média e erro padrão da média de proteína encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM85[®] foi de 1,96±0,01. Na comparação entre os grupos houve diferença significativa, p<0,0001.

4.1.3 Lipídio

Nas 20 amostras de pool de leite humano de banco acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de lipídio encontrada foi de $3,75 \pm 0,16$. Enquanto que a média e erro padrão da média de lipídio encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM85[®] foi de $3,73 \pm 0,07$. Na comparação entre os grupos, não houve diferença significativa, $p=0,96$.

4.1.4 Osmolalidade

Nas 20 amostras de pool de leite humano de banco acrescido de SH a média e erro padrão da média da osmolalidade encontrada foi de $412,47 \pm 5,99$. Enquanto que a média e erro padrão da média da osmolalidade encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $431,0 \pm 0,5$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p < 0,02$.

4.1.5 Conteúdo Calórico

Nas 20 amostras de pool de leite humano de banco acrescido de SH a média e erro padrão da média do conteúdo calórico encontrada foi de $72,27 \pm 2,56$. Enquanto que a média e erro padrão da média do conteúdo calórico encontrado no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $81,65 \pm 0,87$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p < 0,0001$.

4.1.6 Cálcio

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de cálcio encontrada foi de $44,75 \pm 1,21$. Enquanto que a média e erro padrão da média de cálcio encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $79,37 \pm 0,34$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p < 0,001$.

4.1.7 Fósforo

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de fósforo encontrada foi de $23,28 \pm 0,95$. Enquanto que a média e erro padrão da média de fósforo encontrada no mesmo pool de leite

acrescido de FM85[®] foi de $55,97 \pm 0,18$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p < 0,0001$.

4.1.8 Sódio

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de sódio encontrada foi de $14,37 \pm 0,61$. Enquanto que a média e erro padrão da média de sódio encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $20,33 \pm 0,33$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p < 0,0001$.

4.1.9 Potássio

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de potássio encontrada foi de $15,13 \pm 0,26$. Enquanto que a média e erro padrão da média de potássio encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $16,67 \pm 0,09$. Na comparação entre grupos, houve diferença significativa, $p = 0,03$.

4.1.10 Ferro

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de ferro encontrada foi de $0,18 \pm 0,01$. Enquanto que a média e erro padrão da média de ferro encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $0,20 \pm 0,00$. Na comparação entre os grupos, não houve diferença significativa, $p = 0,75$.

4.1.11 Manganês

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de manganês encontrada foi de $0,002 \pm 0,003$. Enquanto que a média de manganês encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $0,002 \pm 0,0006$. Na comparação entre os grupos, não houve diferença significativa, $p = 0,75$.

4.1.12 Zinco

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de zinco encontrada foi de $0,21 \pm 0,007$. Enquanto que a média e erro padrão da média de zinco encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $0,63 \pm 0,02$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p < 0,0001$.

4.1.13 Cobre

Nas 20 amostras de pool de leite humano acrescido de SH a média e erro padrão da média da quantidade de cobre encontrada foi de $0,16 \pm 0,01$. Enquanto que a média e erro padrão da média de cobre encontrada no mesmo pool de leite acrescido de FM85[®] foi de $0,05 \pm 0,006$. Na comparação entre os grupos, houve diferença significativa, $p = 0,0008$.

4.2 Características da população estudada

Os dados referentes ao estudo da amostra populacional em relação ao sexo, adequação do peso de nascimento e uso de ventilação mecânica foi feita análise percentual. Para a comparação da idade gestacional, peso de nascimento, início da nutrição enteral mínima, início da nutrição enteral exclusiva, volume de dieta total recebido, quantidade de caloria total recebida, foi realizado o teste t'student pareado para dados paramétricos.

4.2.1 Sexo

Em relação ao sexo dos RN do grupo LH+SH, 33,33% (n=3) eram do sexo masculino e 66,67% (n=6) eram do sexo feminino. Dos RN do grupo LH+FM85[®] 60,00% (n=6) eram do sexo masculino e 40,00% (n=4) eram do sexo feminino.

4.2.2 Idade gestacional

Em relação à idade gestacional a média e o erro padrão da média dos RN do grupo LH+SH foi de $29,33 \pm 0,29$. Dos RN do grupo LH+FM85[®] foi de $30,20 \pm 0,36$. Em relação à idade gestacional não houve diferença significativa (t'student pareado, $p = 0,13$).

4.2.3 Peso de nascimento

Em relação ao peso de nascimento a média e o erro padrão da média dos RN do grupo LH+SH foi de $989,44 \pm 72,57$. Dos RN do grupo LH+FM85[®] foi de $1104,50 \pm 45,89$. Em relação ao peso de nascimento não houve diferença significativa (t'student pareado, $p=0,19$). Quatro RN do grupo LH+SH (44,4%) e três do grupo LH+FM85[®] (30%) eram de extremo baixo peso ao nascimento.

4.2.4 Adequação do peso de nascimento

Em relação à adequação do peso de nascimento no grupo LH+SH 55,5% (n=5) são AIG e 44,5% (n=4) são PIG; no grupo LH+FM85[®] 50,00% (n=5) são AIG e 50,00% (n= 5) são PIG.

4.2.5 Nutrição enteral mínima

Em relação início da nutrição enteral mínima, a média e o erro padrão da média dos RN do grupo LH+SH, foi de $5,10 \pm 1,79$. Dos RN do grupo LH+FM85[®] foi de $3,10 \pm 0,66$. Em relação ao início da nutrição enteral mínima não houve diferença significativa entre os grupos (t'student pareado, $p=0,31$).

4.2.6 Nutrição enteral exclusiva

Em relação ao início da alimentação enteral exclusiva a média e o erro padrão da média dos RN do grupo LH+SH foi de $17,00 \pm 2,15$. Dos RN do grupo LH+FM85[®] foi de $17,7 \pm 3,68$. Em relação ao início da alimentação enteral exclusiva não houve diferença significativa entre os grupos (t'student pareado, $p=0,87$).

4.2.7 Volume de dieta total

Em relação ao volume médio de dieta recebido durante o período de estudo em cada grupo, expresso em média e o erro padrão da média. Os RN do grupo LH+SH receberam $166,17 \pm 9,25$. E os RNPT do grupo LH+FM85[®] receberam $167,71 \pm 8,52$. Em relação ao volume médio recebido por dia não houve diferença significativa entre os grupos (t'student pareado, $p=0,90$).

4.2.8 Caloria total

Em relação à quantidade de caloria total recebida em cada grupo, expresso em média e erro padrão da média. Os RN do grupo LH+SH receberam $120,09 \pm 6,68$. E os RN do LH+FM85[®] receberam $136,97 \pm 6,96$. Em relação à quantidade calórica recebida por dia não houve diferença significativa entre os grupos (t'student pareado, $p=0,10$).

4.2.9 Ventilação mecânica

Necessitaram de ventilação mecânica 89,00% (n=8) dos RNPT do grupo LH+SH e 50,00% (n=5) dos RNPT do grupo LH+FM85[®]. Em relação aos dias de uso de ventilação mecânica, a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos RNPT do grupo LH+SH foi de $12,4 \pm 2,86$ e dos RNPT do grupo LH+FM85[®] foi de $9,8 \pm 3,12$.

Em relação análise geral dos resultados utilizando o teste ANOVA de 6 vias de medidas repetitivas, a análise de variância envolvendo as variáveis independentes (grupo LH+SH, grupo LH+FM85[®], sexo, adequação do peso, peso de nascimento menor que 1000 g e momento da análise) e variáveis dependentes (peso, comprimento e perímetro cefálico) mostrou não haver interação entre as variáveis independentes para a variável peso ($p > 0,05$), comprimento ($p > 0,05$) e perímetro cefálico ($p > 0,05$).

4.3 Tolerância Gastrintestinal

Em relação à tolerância gastrintestinal, os RNPT de ambos os grupos acompanhados não apresentaram sinais clínicos relacionados à alimentação.

4.4 Parâmetros Bioquímicos

Para a comparação dos dados bioquímicos entre os dois grupos estudados, em cada RNPT, foi feita uma dosagem no momento de ingresso da alimentação referida e outra dosagem no final do acompanhamento dos RNPT. Para isso usou-se o teste paramétrico t'student pareado com amostras relacionadas em cada um dos dados colhidos.

Não houve diferença significativa entre os dados estudados em relação à análise bioquímica de uréia, creatinina, potássio, magnésio, albumina, AST, ALT,

triglicerídeos, hematócrito e hemoglobina. Os dados referidos estão ilustrados na tabela 6.

Tabela 6 – Valores séricos de uréia, creatinina, sódio, potássio, magnésio cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, albumina, aspartato aminotransferase, alanino aminotransferase, triglicerídeos, hematócrito, hemoglobina no início e no final da suplementação do leite humano com suplemento homólogo e FM85[®].

Dados Bioquímicos	LH+SH	LH+FM85 [®]	“p”	LH+SH	LH+FM85 [®]	“p”
	Início X±EPM	Início X±EPM		Final X±EPM	Final X±EPM	
Ureia (mg/dl)	21,25±6,22	20,22±6,06	0,9	16,12±3,56	17,22±3,76	0,84
Creatinina (mg/dl)	0,47±0,06	0,62±0,09	0,23	0,40±0,05	0,43±0,05	0,67
Sódio (mEq/l)	134,25±1,37	139,67±2,32	0,07	136,75±2,01	136,87±1,42	0,96
Potássio (mEq/l)	5,24±0,32	5,01±0,20	0,55	4,55±0,15	4,93±0,23	0,20
Fósforo (mg/dl)	4,45±0,38	5,79±0,45	0,21	5,00±0,41	6,98±0,24	0,05
Calcio (mg/dl)	9,56±0,14	10,35±0,40	0,09	9,70±0,07	9,68±0,18	0,91
Magnésio (mg/dl)	1,93±0,15	2,21±0,14	0,04†	2,11±0,14	1,78±0,05	0,0006 †
Fosfatase alcalina (U/l)	312,57±37,21	344,55±53,38	0,65	462,25±26,92	321,55±54,44	0,04†
Albumina (g/dl)	2,97±0,13	2,51±0,11	0,01†	2,92±0,07	2,86±0,12	0,67
AST (U/l)	25,57±7,06	32,44±5,86	0,47	48,00±25,35	33,78±5,27	0,59
ALT (U/l)	51,50±21,85	43,33±9,87	0,71	49,62±29,37	32,00±2,39	0,53
Triglicerídeos (mg/dl)	116,12±17,18	89,71±17,40	0,3	99,62±18,25	87,75±16,93	0,64
Hematócrito (%)	37,19±2,44	45,11±12,09	0,55	31,75±1,74	26,01±3,55	0,18
Hemoglobina (g%)	12,90±0,89	11,32±0,61	0,16	10,86±0,58	13,23±2,24	0,35

X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; † Diferença significativa entre as amostras – valor p < 0,05. AST – Aspartato aminotransferase; ALT – Alanino aminotransferase

Os dados referentes ao sódio, cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, serão descritos e apresentados sob a forma de figuras.

4.4.1 Sódio

Para os dados de sódio, não houve diferença significativa na dosagem inicial $134,25 \pm 1,37$ no grupo LH+SH e $139,67 \pm 2,32$ no grupo LH+FM85[®] (t'student pareado, $p=0,07$) na dosagem final $136,75 \pm 2,01$ no grupo LH+SH e $136,87 \pm 1,42$ no grupo LH+FM85[®] ($p=0,96$). Os dados estão ilustrados na figura 10.

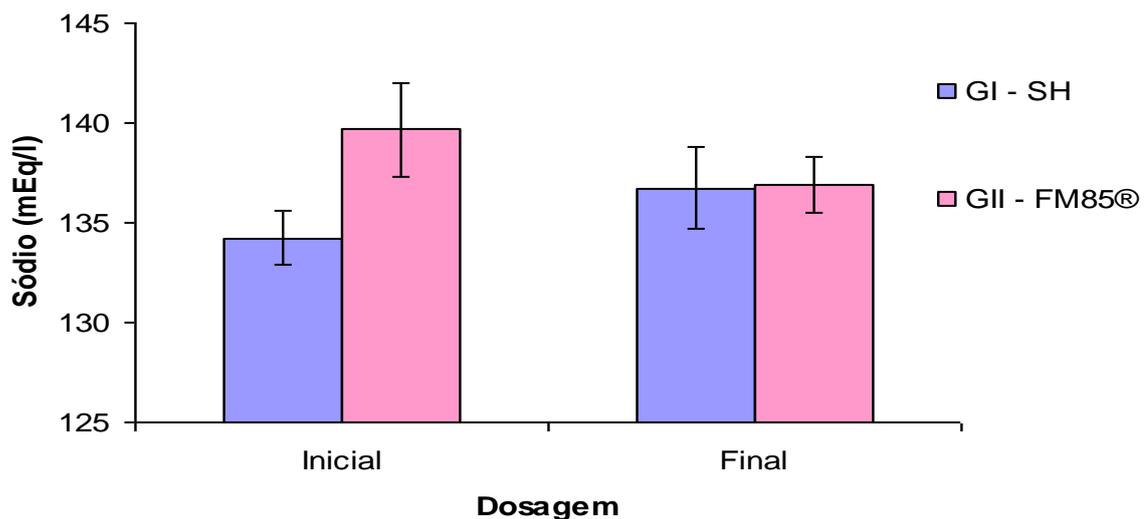


Figura 10 – Gráfico ilustrando os dados bioquímicos de sódio. As colunas representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. Na comparação entre os grupos na dosagem inicial não houve diferença significativa na dosagem inicial (t'student pareado, $p=0,07$). Na comparação da dosagem final entre os grupos não houve diferença significativa na dosagem final (t'student pareado, $p=0,96$).

4.4.2 Cálcio e fósforo

Para os dados de cálcio, não houve diferença significativa na dosagem inicial $9,56 \pm 0,14$ no grupo LH+SH e $10,35 \pm 0,40$ no grupo LH+FM85[®] (t'student pareado, $p=0,09$) e na dosagem final $9,70 \pm 0,07$ no grupo LH+SH e $9,68 \pm 0,18$ no grupo LH+FM85[®] ($p=0,91$). Para os dados de fósforo, houve diferença significativa na dosagem inicial $4,45 \pm 0,38$ no grupo LH+SH e $5,79 \pm 0,45$ no grupo LH+FM85[®] (t'student pareado, $p=0,04$) e na dosagem final $5,00 \pm 0,41$ no grupo LH+SH e $6,98 \pm 0,24$ no grupo LH+FM85[®] ($p=0,0006$). Os dados estão ilustrados na figura 11.

4.4.3 Fosfatase alcalina

Para os dados de fosfatase alcalina, não houve diferença significativa na dosagem inicial $312,57 \pm 37,21$ no grupo LH+SH e $344,55 \pm 53,38$ no grupo LH+FM85[®] (t'student pareado, $p=0,65$). Já na dosagem final, houve diferença significativa $462,25 \pm 26,92$ no grupo LH+SH e $321,55 \pm 54,44$ no grupo LH+FM85[®] ($p=0,04$). Os dados estão ilustrados na figura 12.

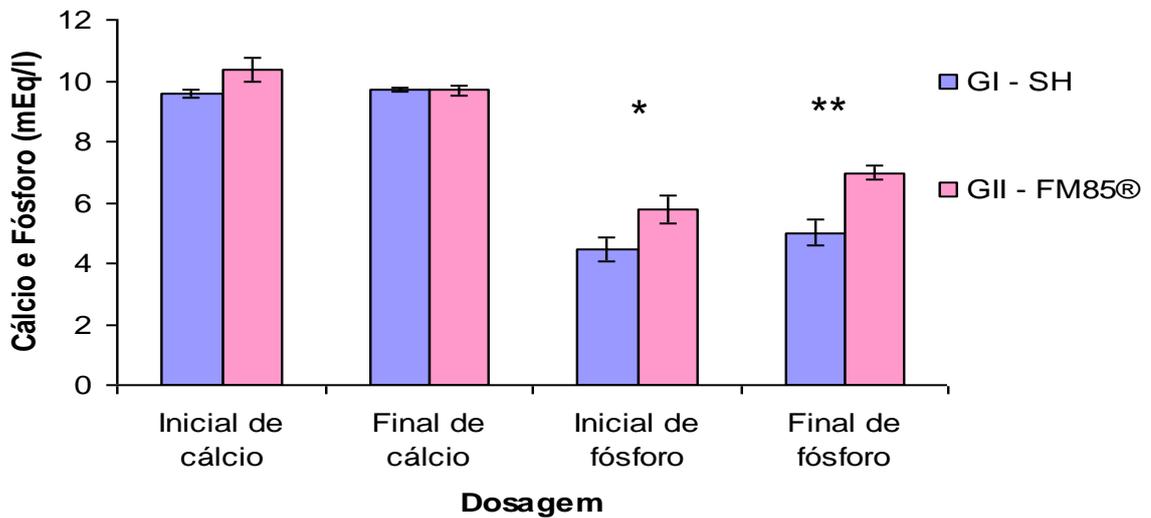


Figura 11 – Gráfico ilustrando os dados bioquímicos de cálcio e fósforo. As colunas representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. Na comparação entre os grupos não houve diferença significativa na dosagem inicial e final de cálcio (t'student pareado, $p=0,09$ e $p=0,91$ respectivamente). *Para os dados de fósforo; na comparação entre os grupos houve diferença significativa na dosagem inicial e final (t'student pareado, $p=0,04$ e $p=0,0006$ respectivamente).

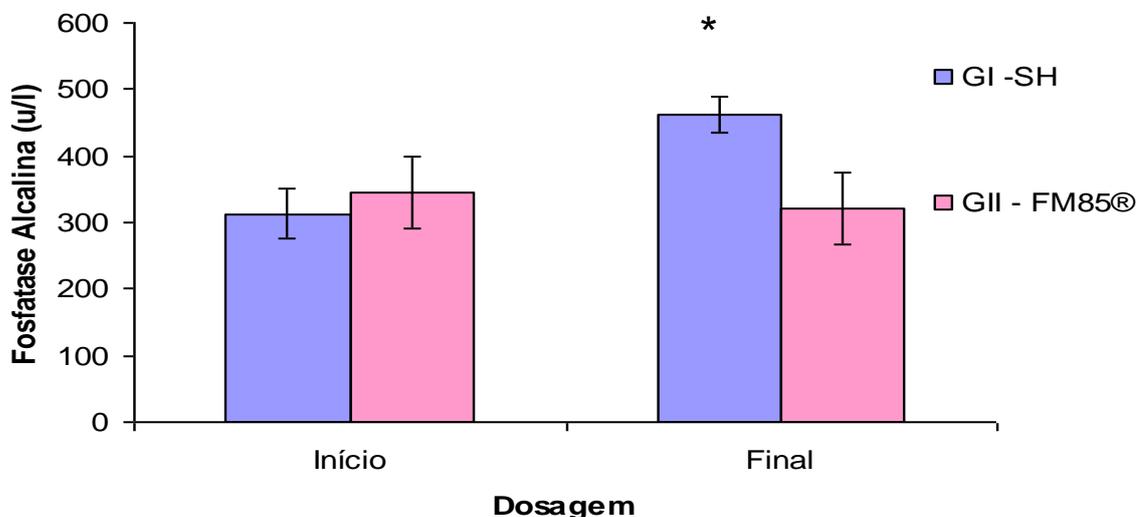


Figura 12 – Gráfico ilustrando os dados bioquímicos de fosfatase alcalina. As colunas representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. Na comparação entre os grupos não houve diferença significativa na dosagem inicial (t'student pareado, $p=0,65$). *Na comparação entre os grupos houve diferença significativa na dosagem final (t'student pareado, $p=0,04$).

4.5 Crescimento

De acordo com dados antropométricos dos RNPT, foi avaliado o ganho em peso, comprimento e perímetro cefálico. Para o ganho (medida final – medida inicial), foi realizado o teste paramétrico t’student pareado com amostras relacionadas, para as três variáveis, ganho em peso, comprimento e perímetro cefálico. Os dados estão ilustrados na tabela 7.

Tabela 7 – Comparação do ganho em peso, comprimento e perímetro cefálico durante o período de estudo entre o grupo alimentado com leite humano com suplemento homólogo e grupo alimentado com leite humano com FM85[®].

Parâmetros de Crescimento	LH+SH ($X \pm EPM$)	LH+FM85 [®] ($X \pm EPM$)	“p”
Peso			
Velocidade de ganho (g/kg/dia)	14,87 \pm 2,45	12,87 \pm 2,29	0,56
Comprimento			
Velocidade de ganho (cm/sem)	0,91 \pm 0,14	0,89 \pm 0,14	0,92
Perímetro cefálico			
Velocidade de ganho (cm/sem)	0,81 \pm 0,09	0,58 \pm 0,07	0,04

X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; † Diferença significativa entre as amostras – valor p < 0,05

Foram realizadas três medidas, de cada um dos dados supracitados. A comparação entre a primeira, segunda e terceira medidas colhidas semanalmente, foi realizado pelo teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas com pós teste de Tukey, com amostras relacionadas.

4.5.1 Peso

A média e erro padrão da média do ganho absoluto em peso expresso em gramas foi de 225,89 \pm 13,07 no grupo LH+SH e de 217,90 \pm 10,29 no grupo LH+FM85[®]. A média e erro padrão da média da velocidade de crescimento relativo expresso em g/kg/dia foi de 14,87 \pm 2,45 no grupo LH+SH e 12,87 \pm 2,29 no grupo LH+FM85[®]. Não houve diferença significativa entre os grupos (p=0,56). Dados ilustrados na tabela 7.

A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no LH+SH, mostrou diferença significativa. Para o dado peso, a média e erro padrão da média da primeira medida foi de $1085,00 \pm 56,76$, da segunda medida foi de $1206,67 \pm 48,09$ e da terceira medida foi de $1293,55 \pm 60,52$. Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ com pós teste de Tukey , primeira medida x segunda medida, $p < 0,001$, primeira medida x terceira medida, $p < 0,001$, segunda medida x terceira medida, $p < 0,05$.

A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no G II, mostrou diferença significativa. Para o dado peso, a média e erro padrão da média da primeira medida foi de $1208,50 \pm 57,90$ da segunda medida foi de $1327,50 \pm 59,84$ e da terceira medida foi de $1439,50 \pm 69,52$. Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ com pós teste de Tukey , primeira medida x segunda medida, $p < 0,01$, primeira medida x terceira medida, $p < 0,001$, segunda medida x terceira medida, $p < 0,01$. Os dados estão ilustrados na figura 13.

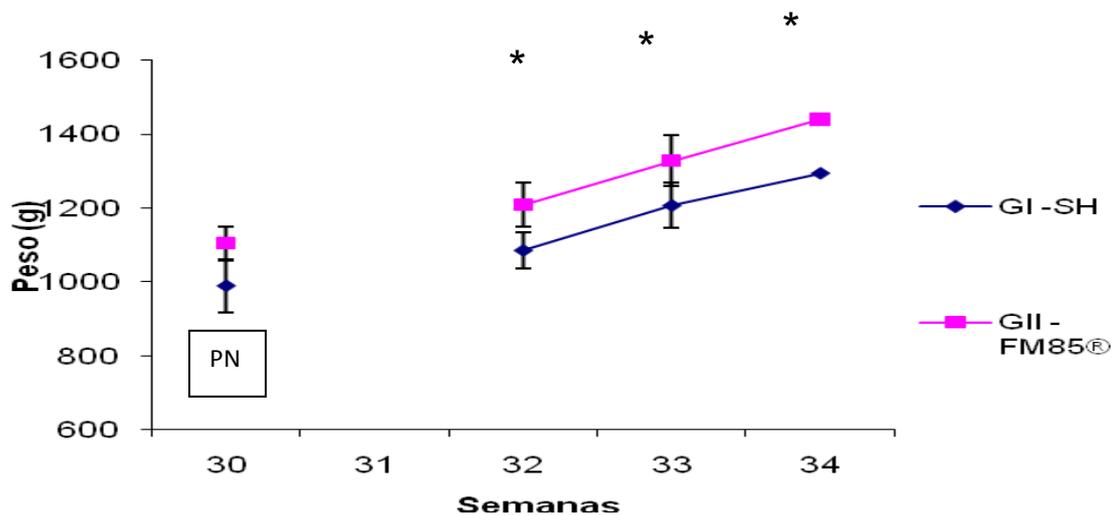


Figura 13 – Gráfico ilustrando o crescimento ponderal do grupo que recebeu SH (GI) e do grupo que recebeu FM85® (GII). Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no LH+SH e II, mostrou diferença significativa. *Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ para ambos os grupos.

4.5.2 Comprimento

A média e erro padrão da média do ganho absoluto em comprimento expresso em cm foi de $1,81 \pm 0,10$ no grupo LH+SH e de $1,81 \pm 0,08$ no grupo LH+FM85®. A média e erro padrão da média de velocidade de incremento em

comprimento expresso em cm/sem foi de $0,91 \pm 0,14$ no grupo LH+SH e $0,89 \pm 0,14$ no grupo LH+FM85[®]. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,92$).

A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no LH+SH, mostrou diferença significativa. Para o dado crescimento em comprimento, a média e erro padrão da média da primeira medida foi de $36,90 \pm 0,77$, da segunda medida foi de $37,92 \pm 0,79$ e da terceira medida foi de $38,63 \pm 0,79$. Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ com pós teste de Tukey, primeira medida x segunda medida, $p < 0,001$, primeira medida x terceira medida, $p < 0,001$, segunda medida x terceira, $p < 0,05$.

A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no LH+FM85, mostrou diferença significativa. Para o dado crescimento em comprimento, a média e erro padrão da média da primeira medida foi de $38,40 \pm 0,67$, da segunda medida foi de $39,36 \pm 0,58$ e da terceira medida foi de $40,24 \pm 0,57$. Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ com pós teste de Tukey, medida inicial x medida média, $p < 0,01$, medida inicial x medida final, $p < 0,001$, medida média x medida final, $p < 0,01$. Os dados estão ilustrados na figura 14.

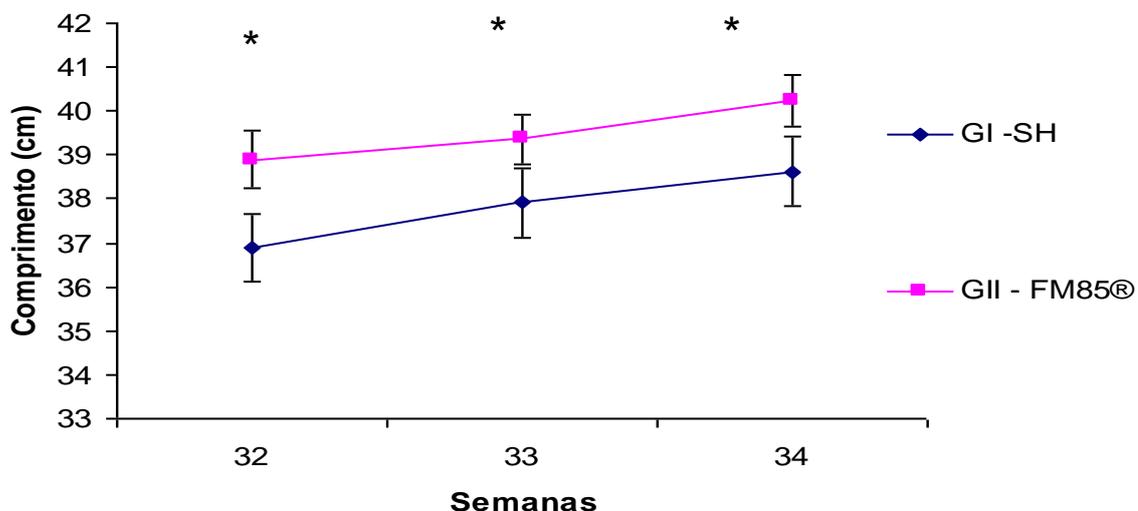


Figura 14 – Gráfico ilustrando o crescimento em comprimento do grupo que recebeu SH (GI) e do grupo que recebeu FM85[®] (GII). Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no grupo I e II, mostrou diferença significativa. *Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ para ambos os grupos.

4.5.3 Perímetro cefálico

A média e erro padrão da média do ganho absoluto em perímetro cefálico expresso em cm foi de $1,62 \pm 0,058$ no grupo LH+SH e de $1,22 \pm 0,08$ no grupo LH+FM85[®]. A média e erro padrão da média da velocidade de incremento do perímetro cefálico expresso em cm/sem foi de $0,81 \pm 0,09$ no grupo LH+SH e $0,58 \pm 0,07$ no grupo LH+FM85[®]. Houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,04$). Os dados estão ilustrados na figura 15.

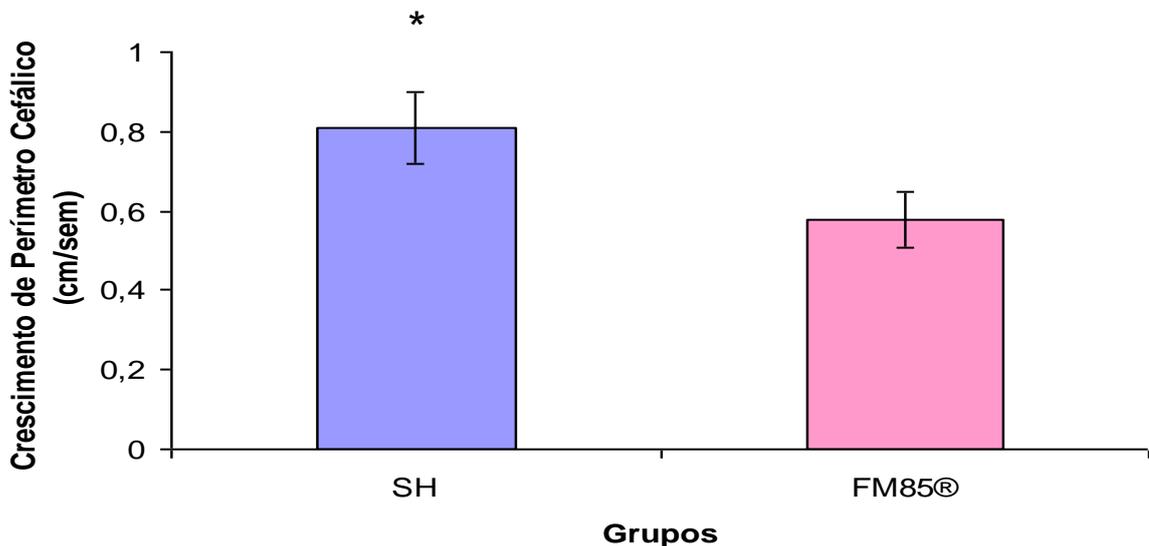


Figura 15 – Gráfico ilustrando a velocidade de incremento em perímetro cefálico em cm/sem do grupo que recebeu SH e do grupo que recebeu FM85[®]. As colunas representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. *Houve diferença significativa entre os grupos (teste t'student pareado, $p=0,04$).

A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no LH+SH, mostrou diferença significativa. Para o dado crescimento do perímetro cefálico, a média e erro padrão da média da primeira medida foi de $26,51 \pm 0,40$, da segunda medida foi de $27,49 \pm 0,41$ e da terceira medida foi de $28,35 \pm 0,46$. Teste de ANOVA de uma via de medidas repetidas, $p < 0,0001$ com pós teste de Tukey, primeira medida x segunda medida, $p < 0,01$, primeira medida x terceira medida, $p < 0,001$, segunda medida x terceira medida, $p < 0,01$.

A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no LH+FM85, mostrou diferença significativa. Para o dado crescimento do perímetro cefálico, a média e erro padrão da média da primeira medida foi de $27,43 \pm 0,53$, da segunda medida foi de $28,08 \pm 0,45$ e da terceira medida foi de $28,90 \pm 0,52$. Teste de

ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$ com pós teste de Tukey, primeira medida x segunda medida, $p > 0,05$, primeira medida x terceira medida, $p < 0,001$, segunda medida x terceira medida, $p < 0,05$. Os dados referentes estão ilustrados na figura 16.

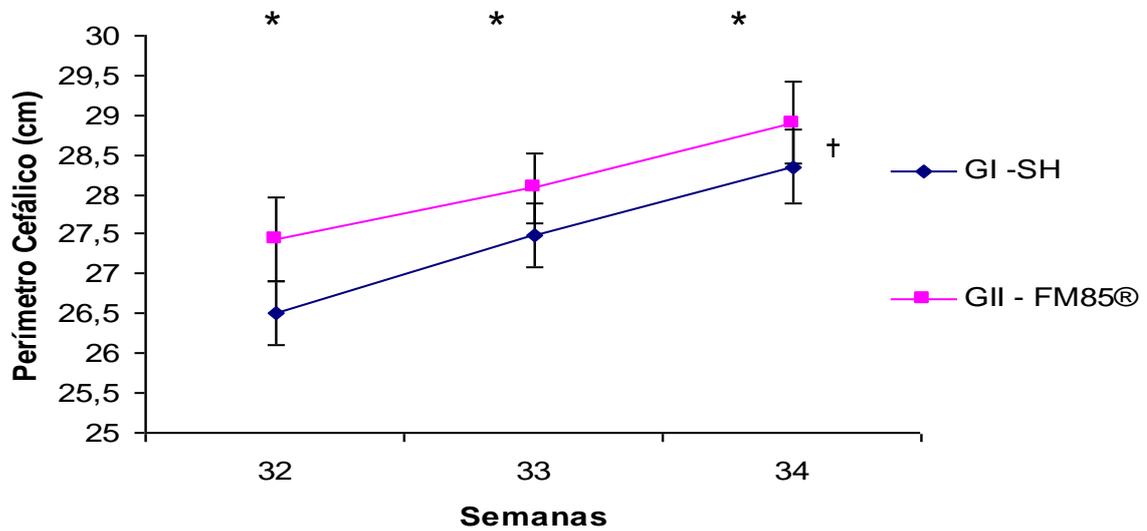


Figura 16 – Gráfico ilustrando o crescimento do perímetro cefálico do grupo que recebeu SH (GI) e do grupo que recebeu FM85® (GII). Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. A comparação entre as medidas avaliadas (primeira, segunda e terceira) no grupo I e II, mostrou diferença significativa. *Teste de ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,0001$.

5 DISCUSSÃO

As técnicas de ultrafiltração e diálise, para aquisição de suplementos derivados de LH e, portanto de origem homóloga, assim como as atualmente utilizadas pela Prolacta Bioscience para produzir o Prolact[®] +4, +6, +8, +10 e NeoPro[®], único suplemento de origem homóloga comercializado, são complexas e de alto custo (LUCAS *et al.*, 1980; MORO *et al.*, 1989, POLBERG; AXELSON; RAIHÄ, 1990).

O emprego da evaporação do LH como método para concentrar nutrientes para que este seja oferecido como alimento na forma líquida ou como suplemento, é de baixo custo, viável e possibilita a oferta de fatores imunológicos como IgA (SANTOS ; MARTINEZ, 1996; BRAGA ; PALHARES, 2007). Porém, a quantidade de proteínas ofertada pelo leite evaporado analisada por Santos e Martinez (1996) e Braga e Palhares (2007), 1,6g/dl e 1,24 a 1,78 g/dl respectivamente, são inferiores ao preconizado pelos comitês de nutrição da AAP 2,9 a 3,3 g/dl e da ESPGAN 2,25 a 3,1g/dl respectivamente (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987).

Para manipular um suplemento de origem homóloga, considerando que o crescimento em curto prazo depende de quantidade adequada de proteínas, mais do que qualquer outro nutriente, mesmo quando a oferta calórica se encontra no limite inferior (ZIEGLER, 1994), deve-se adequar a técnica de concentração do leite com o intuito de aumentar a quantidade de proteínas ofertada.

O suplemento formulado deve ao enriquecer o LH, oferecer no mínimo quantidade de proteínas e calorias semelhante ao menor valor preconizado pelo consenso publicado por Tsang *et al.* (1993): 2,5g de proteína para cada 100 kcal ofertada (tabela 2).

O limitador do conteúdo de leite a ser utilizado para o processo foi aquele que fornecesse a quantidade de proteína que ao ser somado a 100 ml de LH, fosse maior ou igual a 2,5 g/dl. Considerando que o leite maduro tem em média 1,3 a 1,8

g/dl de proteína (SCHANLER, 1995), se concentrar ao máximo 100 ml de leite, teria um suplemento que ao ser adicionado a volume igual de LH, dobraria o conteúdo deste. Foi então escolhida a técnica de liofilização pela melhor conservação dos nutrientes, para concentração, e o volume inicial sugerido para originar o suplemento, foi o de 100 ml de leite humano (NAIL *et al.* 2002).

No leite concentrado por evaporação, há aumento da quantidade de lactose e com isso da osmolalidade, tornando o preparado não desejável. A retirada da lactose por meio de precipitação a frio possibilita a utilização do preparado como mostrado por Santos, Martinez (1996) e quando se evapora 75% do leite, foi observado nesse mesmo estudo o aumento dos lipídios de 1,2 a 4,1 vezes. A média de gordura encontrada nesse concentrado evaporado foi de 7,0 g/dl, com variação mínima de 3,3 g/dl e máxima de 16,9 g/dl, este concentrado se adicionado ao LH poderá ocasionar esteatorreia ou colestase. (BOEHM *et al.*, 1985; ESPGAN-CON, 1987). Assim, há necessidades do desnate do leite, antes da concentração.

Os estudos de Santos, Martinez (1996) e Braga, Palhares (2007), Boehm *et al.*, (1985) nortearam os procedimentos necessários para o encontro do suplemento derivado do leite humano. A sequência de procedimentos utilizada para o preparo do SH está apresentada na Figura 17. Desnate, retirada da lactose por precipitação a frio, o que exige a etapa de evaporação para concentração da lactose e somente após, a liofilização para retirada da água restante.

Ao adicionar o pó, originário de todo o processo, oriundo de 100 ml de LH em 100 ml de LH maduro, a osmolalidade encontrada não permitiu a utilização deste volume para o preparo do suplemento, e baseados neste achado, e na quantidade de proteína que se queria ofertar, os cálculos de proporcionalidade direta resultaram no volume de 70 ml de LH para o preparo do SH que foi adicionado a 100 ml.

Apesar do rigor técnico no preparo das amostras, sabe-se que a manipulação do leite propicia a contaminação. A opção encontrada para o controle biológico do alimento enriquecido com o pó originário de todo o processo foi a seleção de leite com acidez titulável ≤ 2 (CAVALCANTE; TELLES; PEIXOTO, 2005) e pasteurização do leite enriquecido com SH, realizada pelo banco de leite com posterior análise microbiológica pelo teste do verde brilhante (NOVAK; ALMEIDA, 2002.)

Para verificarmos a possibilidade do uso desse suplemento na alimentação de RNMBP, comparamos o conteúdo nutricional de 100 ml do LH com SH com a mesma quantidade de LH com FM85[®] (Nestlé, Holanda) por ser esse o suplemento mais utilizado em nosso meio.

Vinte amostras de 70 ml de leite liofilizado após ter sido retirado gordura e lactose, produziram a média de 5,49 g de pó, quantidade que foi adicionada a 100 ml de pool de LH.

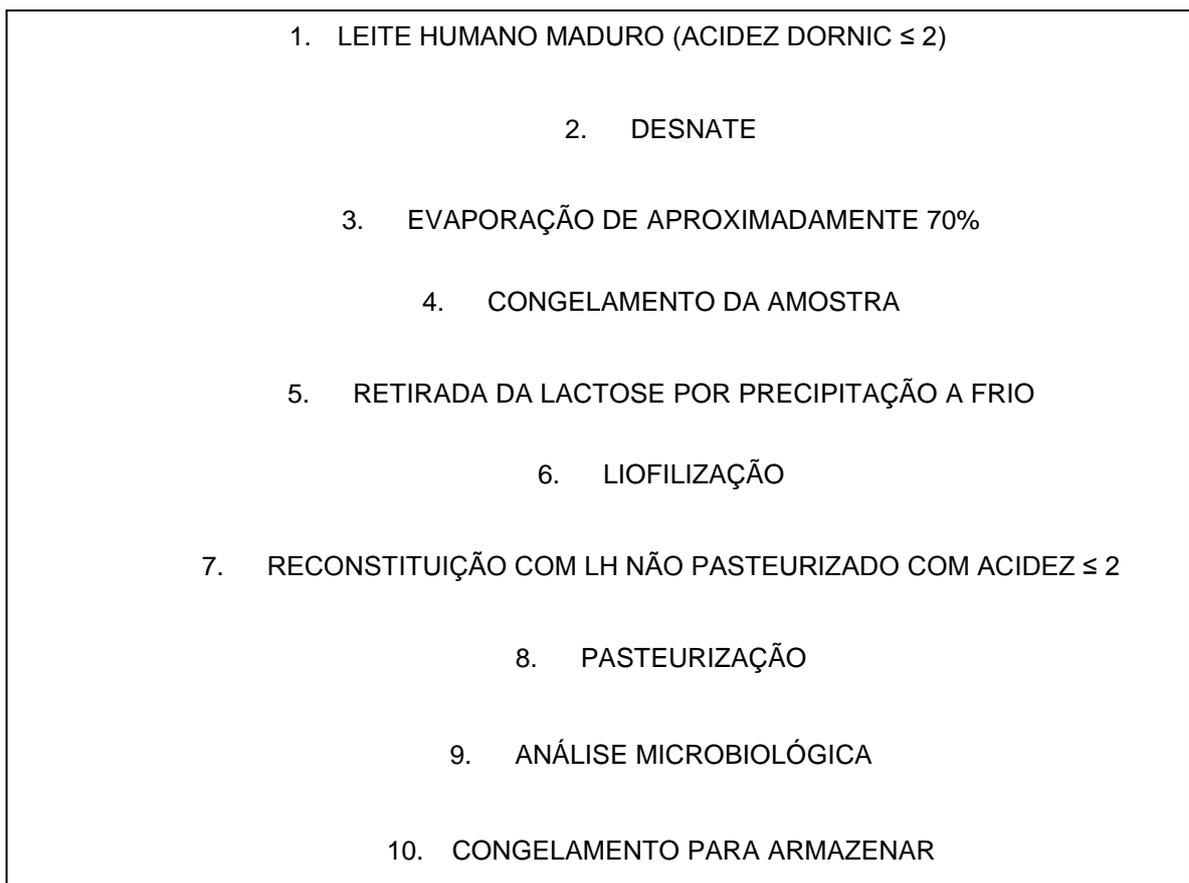


Figura17 – Etapas de processamento do leite humano para originar SH.

A extração de gordura e lactose, e a obtenção do preparado em pó por liofilização e posterior utilização para enriquecimento do LH, de acordo com as concentrações médias de proteínas, gordura e lactose, proporcionaram um leite que oferece aproximadamente 110 a 140 kcal/kg/dia, quando se utiliza um volume de 150 a 200 ml/kg/dia, respectivamente, apesar de ser inferior a quantidade de calorias oferecida quando se utiliza a mesma quantidade diária do leite humano acrescido de FM85[®], 122 a 163 kcal/kg/dia, respectivamente, este valor encontra-se dentro do

recomendado pelos comitês de nutrição da AAP (AAP-CON, 1985) e da ESPGAN (ESPGAN-CON, 1987).

Segundo Scott (2007), os RNMBP necessitam de 3,8 a 4 g/kg/dia de proteínas para atingir valores intra-uterinos de agregação. A oferta de 160 ml/kg/dia de LH enriquecido com SH oferece 3,8 g/kg/dia, de uma proteína homóloga e, portanto, com menor risco a saúde da criança em longo prazo (LUCAS *et al.*, 1992; LUCAS *et al.*, 1996; MORLEY; LUCAS, 1997).

O consenso publicado por Tsang *et al.* (1993) sugere que para suprir os requerimentos protéicos de RNMBP e RNEBP são necessários 2,5 a 3,13 g de proteína para cada 100 kcal. O leite humano acrescido de SH oferece aos RNPT 3,4 g de proteína para 100 kcal.

A quantidade média de lipídios nas amostras de leite com SH é semelhante ao encontrado no leite humano e, portanto sem possibilidades de ocasionar sobrecarga intestinal. A grande preocupação se dá com a aderência dos glóbulos de gordura aos recipientes e conseqüente perda de calorías ao oferecer esse alimento aos RN. Há necessidade de homogeneização dos frascos pela equipe do banco de leite para diminuir a perda calórica desse suplemento ao ser oferecido aos RNMBP (THOMAZ; GONÇALVES; MARTINEZ, 1999).

Nas amostras enriquecidas com SH, a proporção de oferta de calorías na forma de hidratos de carbono foi de 28,96%, proteína 13,19%, e lipídios 46,67%, valores que se encontram dentro da recomendação proposta pelo comitê de nutrição Sociedade de Pediatria Canadense (CPS) (1995).

A osmolalidade dos dois leites suplementados encontra-se acima de 400 mosmol/kgH₂O, sendo maior no leite humano acrescido de FM85[®] suplemento comumente utilizado para alimentação de RNMBP.

A adição de suplementos ao LH está relacionada ao aumento da osmolalidade da dieta, principalmente se a oferta do alimento suplementado demorar a acontecer, pois a amilase que resiste à pasteurização quebra os polissacarídeos em mono e oligossacarídeos (DE CURTIS *et al.*, 1999). Assim, ao administrarmos tais fórmulas, deverão ser observados os seguintes sintomas: distensão abdominal,

diminuição do tempo de esvaziamento gástrico, aumento no número de evacuações. A suplementação em caso de aparecimento de um desses sintomas deverá ser reduzida ou abandonada (LUCAS ; COLE, 1990; OLIVEIRA; MYASHI, 2005; PEREIRA, 2008).

Dentre os estudos que utilizaram suplementos derivados do LH merecem destaque pela semelhança ao que foi realizado neste estudo, os de Boehm *et al* (1985) e Boehm *et al* (1993). No primeiro, os autores avaliaram a resposta metabólica de 24 RNMBP pequenos ou adequados para idade gestacional, alimentados com LH liofilizado, enriquecendo o leite humano, com o intuito de avaliar se RNMBP PIG, poderiam ser nutridos com este suplemento. Para tal, adicionou 6 g de LH liofilizado a 100 ml de LH e obteve um alimento contendo 1,58 g/dl de proteína, 5,54 g/dl de gordura e 8,7 g/dl de lactose, com osmolalidade final da fórmula de 384,9 mosm/kgH₂O. Concluíram que em decorrência dos efeitos adversos como excreção aumentada de aminoácidos e colestase, o leite humano liofilizado não poderia ser utilizado como suplemento. No segundo, os autores alimentaram um grupo de RNMBP com LH acrescido de 8 g de LH desnatado, adicionado a 100 ml de LH e outro grupo com LH enriquecido com suplemento, contendo quantidade de aminoácidos balanceados (EOPROTIN®, Milupa) e utilizando a avaliação do balanço metabólico, compararam a absorção de gorduras e proteínas e concluíram que não há diferença no aporte de nutrientes entre os dois grupos estudados. É interessante observar que no primeiro estudo a quantidade de proteína era menor que a encontrada em nosso estudo, e também que nos dois estudos não houve a retirada da lactose, e não houve a preocupação com o relato da osmolalidade da fórmula no segundo estudo.

Na presente pesquisa foi verificado que a não retirada da lactose inviabiliza a utilização de tal preparado em decorrência do aumento da osmolalidade do suplemento. Fator julgado como de extrema importância na nutrição de RNMBP.

Nas amostras contendo o SH, a quantidade de cálcio e fósforo encontrada está abaixo das recomendações nutricionais (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987). Então, para suprir os requerimentos nutricionais de RNMBP, há necessidade de oferta extra de aproximadamente 75 mg de cálcio e 35 mg de fósforo para cada 100 ml de leite enriquecido com o preparado proposto. Teoricamente este acréscimo

fará com que 150 ml/kg/dia do alimento proposto ofereça 180 mg/kg/dia de cálcio e 87 mg/kg/dia de fósforo valores que alcançam as recomendações da ESPGAN-CON (1987) e quando oferecido volume igual a 200 ml/kg/dia, alcancem as recomendações da AAP-CON (1985), não ultrapassando os valores máximos e mantendo a relação entre o cálcio e o fósforo de aproximadamente 2:1. O acréscimo destes minerais na forma de glicerofosfato de cálcio e cálcio quelado à glicina, não mostrou aumento significativa na osmolalidade do suplemento $420,50 \pm 8,46$ quando comparado à osmolalidade inicial da fórmula e ainda mostrou-se inferior ao LH acrescido de FM85[®].

As amostras acrescidas de FM85[®] forneceram o mínimo de cálcio e fósforo recomendado pelo ESPGAN-CON (1987). Estudo utilizando esse suplemento como enriquecedor do LH mostrou que deficiências de cálcio, fósforo e magnésio ocorreram em RNEBP (LOUI *et al*, 2002).

A utilização destes suplementos deve estar vinculada a monitorização da quantidade sérica destes minerais.

O balanço positivo de sódio é pré-requisito para o crescimento e está relacionado ao melhor desenvolvimento (AL-DAHMAN; JANNOUN; HAYCOCK, 2002). A necessidade de sódio de RNMBP, segundo a AAP-CON, é de 4 a 5 mEq/kg/dia, sendo necessária a reposição para crianças menores de 32 semanas de IG, até que o desenvolvimento do sistema renal e gastrointestinal propiciem um melhor balanço desse nutriente (AL-DAHMAN *et al.*, 1983; AL-DAHMAN *et al.*, 1984).

Considerando que o leite humano com SH, quando oferecido em um volume igual a 150 ml/kg/dia, oferecerá aproximadamente 2,4 mEq/kg/dia de sódio, e que sua utilização provavelmente acontecerá após a segunda semana de vida, época em que há necessidade de aumento da oferta desse eletrólito, deve-se realizar a monitorização sanguínea de sódio, para determinar as necessidades de suplementação do mesmo.

Segundo Klein (2002) a quantidade de potássio presente no LH (12,5 a 16,0 mEq/l) supre os requerimentos nutricionais de RNMBP . Considerando que a concentração média deste elemento no leite humano com SH e FM85[®], foi

semelhante ao recomendado pelos comitês de nutrição, não há necessidade de suplementações deste mineral (AAP-CON, 1985 ESPGAN-CON, 1987).

Ferro, manganês, zinco e cobre são elementos que quantitativamente representam pequena fração do total do conteúdo mineral do corpo humano, porém são elementos que apresentam importante papel em várias vias metabólicas e interações entre elas. Devido à vasta atuação destes elementos no organismo os sinais de deficiência se assemelham à deficiência de outros componentes e considerando que os RNMBP são privados da reserva deste nutriente, há a preocupação quanto à oferta adequada (AGGET, 2000; KLEIN, 2002; GILES; DOYLE, 2007; TRINDADE, 2007).

A quantidade de ferro em LH maduro é muito abaixo das necessidades requeridas pelos RNPT. No colostro de mães de RNPT, a quantidade de ferro é aproximadamente 0,196 mg/dl, maior que a quantidade encontrada no de mães de RNT, 0,171 mg/dl, porém sem significativa diferença (GEORGIEFF, 2008). Em leite maduro é encontrada a média de 0,05mg/dl (SCHANLER, 1980). A quantidade de ferro encontrada no LH com SH foi semelhante ao encontrado pelo mesmo leite com FM85[®]. A suplementação do leite de banco permitiu melhorar o conteúdo de ferro e deixá-lo próximo ao encontrado no LHPr, porém, esta quantidade é muito inferior as necessidades exigidas para o período de crescimento, indicando a necessidade de suplementação desse nutriente quando os RNMBP estiverem recebendo tanto uma como outra dieta (ERHENKRANZ, 1994).

A necessidade de manganês de um RNPT varia de 0,002 a 0,01 mg/dl. Este estudo mostrou que o LH de banco com SH fornece quantidade semelhante à ofertada pelo leite com FM85[®]. A quantidade encontrada de manganês, indica não haver necessidade de complementação desse elemento traço aos RNPT alimentados com os suplementos estudados (LÖNNERDAL, 2005).

Altas concentrações de manganês diminuem a absorção de ferro, possivelmente por competir com a lactoferrina. No leite humano o manganês se encontra ligado a lactoferrina. A quantidade de manganês no leite humano suplementado não é capaz de provocar diminuição na absorção de ferro (KLEIN, 2002).

A concentração de cálcio influencia a absorção de manganês; para que ocorra absorção adequada de manganês, a relação entre estes dois elementos deve ser de 50 mg de cálcio para 1 µg de manganês (KLEIN, 2002). Mesmo se acrescentarmos cálcio ao SH, a relação entre cálcio e manganês ainda se manterá dentro das recomendações (para 123 mg de cálcio/100 kcal há necessidade de 2,5 ug de manganês/100 kcal) permitindo a não interferência do cálcio na absorção de manganês (KLEIN, 2002).

A concentração média de zinco no LH varia de aproximadamente 0,159 mg/dl a 0,25 mg/dl (SCHANLER, 2007), outras publicações evidenciam concentrações maiores 0,26 a 0,53 mg/dl (PEREIRA; BARBOSA, 1986). Em estudos, avaliando o conteúdo de zinco e cobre em leite de mães de RNT e RNPT, foi encontrada a quantidade média 0,48 mg/dl no leite maduro e uma variação de 0,24 a 0,45 mg/dl no LHPr (MOURA; MELNIKOV, 2006; FIGUEIREDO *et al.*, 2009).

A quantidade de zinco encontrada no LH com SH encontra-se significativamente abaixo do valor encontrado no leite com FM85[®]. Quando oferecemos um volume de dieta entre 150 e 200 ml/kg/dia, esta oferta será respectivamente de 0,31 mg/kg/dia e 0,42 mg/kg/dia para o pool de LH com SH e 0,94 a 1,26 mg/kg/dia para o o leite com FM85[®]. O requerimento de zinco de RNPT é de 1 mg/kg/dia quando o crescimento começar a estabelecer-se (AGGET, 2000; LÖNNERDAL, 2005), assim mesmo considerando que a biodisponibilidade deve ser melhor quando há utilização de SH, este se mostrou abaixo da quantidade recomendada pelos comitês de nutrição e implica na necessidade de complementação.

O cobre encontrado no leite de mães de pré-termo é de aproximadamente 0,08 mg/dl e diminui para 0,06 mg/dl com 1 mês, mantendo-se no leite maduro (KLEIN, 2002). Em estudo realizado em nosso meio, a quantidade de cobre do leite maduro foi maior que a quantidade encontrada em outros estudos (0,14±0,01 mg/dl) e a encontrada no LHPr variou de 0,05 a 0,12 mg/dl (MOURA; MELNIKOV, 2006; FIGUEIREDO *et al.*, 2009).

No LH com SH foi encontrada quantidade significativamente maior de cobre que a encontrada no leite com FM85[®]. A oferta de 150 ml/kg/dia a 200 ml/kg/dia do

leite com SH irá ofertar em média 0,24 a 0,32 mg/kg/dia de cobre, enquanto que o leite com FM85[®] irá ofertar 0,075 a 0,1 mg/kg/dia. O primeiro oferece quantidade acima do recomendado para o período de crescimento estável, porém inferior ao recomendado para as fórmulas (KLEIN, 2002) e, portanto sem risco de promover toxemia (ESPGAN-CON, 1987; SCHANLER, 1995).

Relação entre zinco e cobre maior que 20:1 poderá diminuir a absorção do cobre. A relação entre estes dois elementos no grupo de amostras de LH com SH foi de 1,3:1 e no grupo de amostras de leite humano com FM85[®] foi de 13:1 e indicam que a quantidade de zinco não irá interferir na absorção do cobre, podendo inclusive ser adicionado ao SH se a osmolalidade final permitir.

A modificação do LH proposta nesse estudo e a adição deste preparado ao LH propicia um alimento com quantidades de macronutrientes semelhantes ao oferecido pelo LHPr, nas primeiras semanas de lactação, com a vantagem de oferecer quantidade maior de proteína. Em relação aos suplementos comerciais habitualmente utilizados em trabalhos científicos, o Eoprotin[®] (Milupa) oferece maior quantidade de calorias por adição de hidratos de carbono enquanto que, em relação ao Prolacta +4[®] (Bioscience), a maior quantidade de calorias ofertada por este está relacionada à maior quantidade de lipídios (Tabela 8).

Devido ao menor conteúdo de minerais ofertados pelo SH, há necessidade de controle sérico e acréscimo destes à fórmula ou a utilização de suplementação.

Em bancos de leite humano com grande número de doadoras, em países em desenvolvimento, considerando o alto custo dos suplementos comerciais, este preparado por oferecer quantidade de nutrientes que preenchem os requerimentos nutricionais de RNMBP, ao ser acrescido ao LH e por oferecer proteína homóloga, parece ser bem indicado como suplemento do leite humano, sendo pertinente a utilização deste preparado como suplemento do LH na alimentação de RNMBP, para avaliarmos a tolerância gastrointestinal e o comportamento do crescimento a partir do início da dieta enteral exclusiva. Para tal, foram acompanhados nove RNPT alimentados com LH de banco acrescido de SH e dez alimentados com LH de banco acrescido de FM85[®]. Apesar do número pequeno de crianças avaliadas, foi possível estabelecer uma correlação mensurável estatisticamente, entre as variáveis

estudadas, sendo necessário, entretanto a análise descritiva de determinadas características individuais.

Tabela 8 – Comparação entre o conteúdo nutricional do leite da mãe do pré-termo com o suplemento derivado do leite humano , Eoprotin[®] e Prolacta +4[®] preparados para 100 ml de leite.

Conteúdo Nutricional	LHPr†	SH	EOPROTIN†	PROLACTA+4†
Energia (kcal)	67-71	72,27	65	83
Lipídios (g)	3,6-3,9	3,75	3,6	4,9
Hidrato de carbono (g)	6,6-7,0	7,25	9,8	7,3
Proteína (g)	1,4-1,8	2,38	2,6	2,3
Cálcio (mg)	22	44,75	72	128
Fósforo (mg)	14	23,28	48	70
Sódio (mEq)	0,7	1,5	1,9	2,3
Potássio (mEq)	1,46	1,44	-	1,82
Manganês (mg)	0,0007	0,002	-	0,002
Ferro (mg)	0,12	0,18	-	0,20
Zinco (mg)	0,320	0,21	0,320	0,74
Cobre (mg)	0,06	0,16	0.060	0,67

LHPr – Leite humano pré-termo; SH – suplemento homólogo; †Schanler RJ, Benefícios clínicos do leite humano para lactente pré-termo in *Nutrição do Recém-nascido de muito baixo peso*. Nestle nutrition workshop séries no. 43 p20—22.1998, vevey suíça, Nestec ltd. Young TE. Prolact+ H²MF[®] Human Milk Fortifier. NEOFAX[®] Twenty-second edition, 2009 p 321-7.

A homogeneidade entre os dois grupos foi avaliada comparando as seguintes variáveis: sexo, idade gestacional, peso de nascimento, adequação do peso, idade de início da nutrição enteral mínima, idade ao atingir nutrição enteral exclusiva e ingresso nos grupos, volume médio de dieta recebido por dia, quantidade média de calorias recebida por dia, necessidade e tempo de ventilação mecânica.

Quanto ao sexo, houve um predomínio de crianças do sexo masculino no grupo LH+FM85[®]. Os estudos de crescimento de RNMBP observam que não há interferência do sexo no crescimento durante as semanas de internação (ERHENKRANZ,1999; ORNELAS *et al.* 2002; ANCHIETA; XAVIER; COLOSIMO, 2002, ANCHIETA; XAVIER; COLOSIMO, 2004, RUGOLO, 2005; BERTINO, 2006).

Este estudo aconteceu nos primeiros dias de dieta enteral total, durante o período de internação. A análise estatística mostrou que a diferença de sexo entre os grupos estudados também não teve interação com os resultados de crescimento.

Não houve diferença entre os dois grupos quanto à média da idade gestacional e do peso de nascimento. A avaliação do peso para idade gestacional, tendo como ponto de corte o percentil 10 dado pelo estudo de Alexander *et al.* (1996) mostrou que no grupo LH+SH, 44,4% dos RNMBP avaliados eram PIG, e no grupo LH+FM85[®], 50% deles eram PIG (APÊNDICE B). A análise estatística mostrou que neste estudo não houve interação desta variável com os resultados de crescimento.

Conforme verificado por Anchieta; Xavier; Colosimo (2004) e Bertino *et al.* (2006), os RNMBP e RNEBP AIG alcançam, sem diferenças, o primeiro pico de velocidade de crescimento somático, aproximadamente entre a 2^a e a 3^a semana e um segundo pico de crescimento entre a 7^a e 8^a semana. O período deste estudo ocorreu entre os dois picos de crescimento, e havia 4 RNPT de extremo baixo peso no grupo LH+SH e 3 no grupo LH+FM85[®]. A análise estatística mostrou que também não houve interação desta variável com os resultados de crescimento, durante o período estudado.

Na unidade de terapia intensiva neonatal do HU-UFMS é adotada a nutrição parenteral nas primeiras 6 horas de vida e a nutrição enteral mínima, o mais precoce possível, com aumento dos valores de 20 a 30 ml/kg/dia, como recomendado (CAMELO JR; MARTINEZ, 2001), porém em virtude da presença de sintomas que indicam risco de enterocolite necrotizante nos RNMBP, muitas vezes há retardo no início da nutrição enteral mínima e em sua progressão. Foi observado que a média de dias para o início da nutrição enteral mínima do LH+FM85 foi menor quando comparada com a média do LH+SH, porém, sem diferença estatística. Sabe-se que há uma correlação positiva entre o retardo na nutrição enteral mínima e desnutrição em RNMBP, assim como a presença de dieta enteral plena até o 10^o dia apresenta-se como fator de proteção para a desnutrição (GIANINI *et al.*, 2005). Neste estudo, houve semelhança entre a média de dias para início da nutrição enteral exclusiva.

A quantidade de calorias acrescidas pelos suplementos é diferente. Maior para o LH suplementado com FM85[®] (tabela 4). Fato que poderia favorecer o

crescimento dos RNPT do grupo LH+FM85[®] (ORNELAS *et al.*, 2002; ACHIETA; XAVIER; COLOSIMO, 2004; GIANINI *et al.* 2005). Porém não houve diferença significativa entre o volume e a quantidade de calorias, ofertado para as crianças do grupo LH+SH e grupo LH+FM85[®].

A necessidade de ventilação mecânica indica maior gravidade clínica e poderia implicar negativamente no crescimento de ambos os grupos. Berry, Conrad, Usher (1997) observou correlação negativa da VM com o crescimento, já Gianinini, Vieira, Moreira (2005) não observou significativa a interferência dos dias de ventilação no crescimento de RNPT. Apesar de no grupo LH+SH mais RNMBP terem necessitado de ventilação mecânica quando comparado com o grupo LH+FM85[®], a análise estatística mostrou que não houve interação desta variável com os resultados de crescimento.

O acompanhamento clínico durante todo o período de estudo, mostrou que não houve sinais de intolerância gastrointestinal nos dois grupos. Indicando que a osmolalidade maior que 400 mosmol/kgH₂O, encontrada nas amostras de leite acrescidas dos dois suplementos não provocou sobrecarga osmolar.

A média de todos os parâmetros bioquímicos avaliados esteve dentro da normalidade, tanto no início quanto no final do acompanhamento, exceção a albumina, cuja média que se manteve abaixo de 3,0 g/dl nos dois grupos estudados. Entretanto, alguns achados devem ser discutidos individualmente.

Nos dois grupos foi observada uma queda dos valores de ureia inicial para final, porém sem diferença estatística. Segundo Arslanoglu *et al.* (2006) a ureia reflete a oferta de proteína, assim a queda pode ter sido em consequência da transição da oferta protéica parenteral, maior, para a enteral, menor.

Apesar de não ter tido casos de hiponatremia, sódio sérico menor que 130 mg/dl (Day *et al.*, 1976), o sódio sérico tendeu a ser mais baixo no grupo LH+SH, em decorrência provavelmente da menor quantidade de sódio ofertada pelo SH que a ofertada pelo FM85[®].

A média de cálcio e fósforo no grupo LH+SH e grupo LH+FM85[®] se manteve dentro do esperado, pois houve a suplementação destes dois minerais nos dois

grupos estudados. Entretanto, podemos verificar uma diferença significativa de fósforo plasmático no início e no final do período de estudo. Este achado somado ao fato de que a média da fosfatase alcalina sérica foi maior no grupo LH+SH no final do período de estudo, sugere que deverá haver a necessidade de maior acréscimo na oferta de cálcio e fósforo no SH.

Três RNMBP, 1 do grupo LH+SH e 2 do grupo LH+FM85[®] apresentaram quantidade de triglicerídeos sanguíneo acima de 150 mg/dl na primeira coleta, início da alimentação enteral exclusiva, o que pode ser o reflexo da quantidade de lipídio ofertado por via parenteral. Em 1 do grupo LH+SH e 1 do grupo LH+FM85[®], a quantidade de triglicerídeos sanguíneo ainda se manteve acima de 150mg/dl, após 15 dias de alimentação enteral, o que indica não ser possível para estes RNMBP, o aumento do valor de lipídio da dieta, se quiséssemos ajustar o valor energético conforme a necessidade individual (APÊNDICE C).

Níveis séricos baixos de albumina são correlacionados com diminuição na absorção de fluídos e aumento na retenção de fluídos no intestino. Esse acúmulo de fluidos diminui a motilidade intestinal e a absorção de nutrientes. Diferenças no ganho de peso poderiam ser explicadas, em parte, pelos efeitos positivos de um nível sérico mais alto de albumina e de pressão oncótica, com melhora na tolerância à dieta pelos RN (KAMINSKI; WILLIAMS, 1990). A albumina mostrou-se abaixo do nível de normalidade 3g/dl nos dois grupos estudados, o que pode ter influenciado o crescimento de ambos os grupos e indica que devemos melhorar a oferta protéica nos dois grupos.

A avaliação do crescimento de RNPT é utilizada para monitorar a nutrição. É recomendado que, após o nascimento o ganho de peso deva ser aproximado ao ganho de peso fetal no último trimestre gestacional (CPS-CN, 1995). A antropometria fornece uma visão qualitativa e quantitativa de crescimento do RN. As avaliações feitas ao nascer refletem o padrão de crescimento fetal, enquanto as avaliações longitudinais refletem o crescimento pós-natal.

A avaliação do peso é considerada o padrão ouro para a avaliação do crescimento pós-natal, entretanto, medidas isoladas do peso não podem ser consideradas um indicador acurado da massa corpórea magra por não distinguir

entre ganho de massa e de líquido e, portanto, deve ser avaliado em conjunto com outras medidas como comprimento e perímetro cefálico. A taxa esperada de ganho de peso fetal durante o último trimestre da gestação é de 10 a 15 g/kg/dia (PEREIRA, NIEMAN, 2008).

O comprimento não sofre interferência do grau de hidratação e a taxa esperada de crescimento fetal, em comprimento, durante o último trimestre de gestação é de 0,75 cm/sem (PEREIRA, NIEMAN, 2008).

O perímetro cefálico constitui uma medida indireta do crescimento cerebral, sendo importante tanto ao nascer quanto em estudos longitudinais. A taxa esperada de crescimento do perímetro cefálico durante o último trimestre da gestação é de 0,75 cm/sem (PEREIRA, NIEMAN, 2008).

Na curva construída por Bertino *et al.* (2006) foi avaliado o crescimento de 262 RNMBP, mostrando claramente dois picos de velocidade relativa de ganho de peso, um pico entre a 2ª e 3ª semana, onde o RNPT chega a ganhar 17,8 g/kg/dia, seguido de declínio na velocidade de ganho de peso explicado pelo autor como consequência da interrupção da nutrição parenteral e ingresso da nutrição enteral total e o segundo pico por volta da 6ª semana (14 g/kg/dia).

Anchieta, Xavier; Colosimo (2004) observaram que a velocidade de ganho absoluto em comprimento não tem diferença nas primeiras 5 semanas após o nascimento, a partir de então, há uma desaceleração no ganho em comprimento e este variou de 0,92 a 1 cm, maior nas crianças com peso entre 1250 e 1500 g. O crescimento do perímetro cefálico apresentou em seu estudo uma aceleração nas primeiras quatro semanas, sendo maior para o grupo de RNPT, entre 750 e 1000 g, 0,8 cm/sem, quando comparado com o crescimento de 0,75 cm/sem dos RNPT com peso entre 1000 e 1500 g; a partir de então se mantém em uma velocidade constante de 0,85 cm/sem para os menores e 0,8 cm para os maiores.

A importância do conhecimento destes detalhes do crescimento está no fato de que no presente estudo, a maioria dos RNMBP foram acompanhados entre as primeiras cinco semanas de idade pós-natal, logo após a transição da nutrição parenteral para a enteral total e, portanto no período de queda da velocidade de

ganho de peso e antes da segunda aceleração. O que pode dificultar a comparação com outros estudos, que acompanharam o crescimento de RNPT até a alta hospitalar ou mais.

No presente estudo os RN recuperaram seu peso de nascimento antes da terceira semana de vida (APÊNDICE D), fato esse coincidente com o descrito na literatura (RUGOLO, 2005). Em relação a velocidade relativa de ganho em peso (g/kg/dia), ganho em comprimento e em perímetro cefálico (cm/sem), pode-se observar que quando há comparação dos resultados com o que seria esperado para o crescimento fetal proposto por Pereira e Nieman (2008), que o suplemento FM85[®] não proporcionou o ganho em perímetro cefálico esperado, enquanto o ganho dos outros parâmetros estudados foi atendido pela adição dos dois suplementos ao LH.

Ketut *et al.* (2003) compararam dois grupos de RNPT alimentados com leite humano e leite humano suplementado durante 30 dias ou até a alta hospitalar e observou um ganho em peso nesse período de 335 g, 1,9 cm em comprimento e 1,9 cm em perímetro cefálico nos RNPT alimentados com o suplemento. Quando comparamos com a média de ganho total encontrada nos RNPT do grupo LH+SH e no grupo LH+FM85[®], observamos que, em apenas 15 dias de acompanhamento, houve um ganho maior em todos os parâmetros avaliados. O estudo de Ketut *et al.* (2003) justificou o crescimento reduzido quando comparado com outros estudos, em decorrência do curto período de tempo de observação.

Mataloun *et al.* (2004), alimentaram 18 RNMBP com LH enriquecido com FM85[®] e compararam o crescimento deste grupo com 24 RNMBP alimentados com fórmula para prematuro. O grupo alimentado com FM85[®] ganhou em média 18,9 g/kg/dia, taxa de ganho em peso maior que os dois grupos deste estudo. A diferença talvez se explique pelo curto período de acompanhamento das crianças deste estudo que foi de 15 dias.

Schanler *et al.* (2005) compararam três grupos de RNMBP alimentados com LH acrescido de suplemento (Enfamil[®] ou Similac[®]), LHPr e fórmula, acompanhou-os por 90 dias ou até a alta hospitalar. Nas crianças alimentadas com LH suplementado estes autores observaram um ganho de 17,1 g/kg/dia em peso, 1,2 cm/sem em comprimento e 0,9 cm/sem em perímetro cefálico e nas crianças que foram

alimentadas com o LHPr observaram um ganho de 19,7g/kg/dia em peso, 0,6 cm/sem em comprimento e 0,7 cm/sem em perímetro cefálico. Ao compararmos estes resultados com os encontrados no grupo LH+SH observamos que o ganho em peso foi maior no estudo de Schanler *et al.* (2005), quanto ao comprimento as crianças alimentadas com leite humano suplementado ganharam mais que as que receberam LHPr e as do grupo LH+SH deste estudo. Já o ganho em perímetro cefálico foi maior no grupo LH+SH que o do grupo alimentado com LHPr e semelhante ao grupo alimentado com leite suplementado daqueles pesquisadores. Talvez os resultados de maior ganho em peso e comprimento observados por Schanler, *et al* (2005) sejam pelo acompanhamento de um número maior de crianças por um período também maior.

Loui *et al.* (2008), compararam o crescimento de RNMBP em ventilação mecânica (n=22) com os que não necessitaram de ventilação mecânica (n=23), por 5 semanas após o nascimento, o parâmetro ventilação mecânica, foi utilizado pelos autores como marcador de severidade do quadro clínico. Todos os RNPT receberam no período de nutrição enteral total LH enriquecido com FM85[®] ou fórmula para pré-termo, com o intuito de manter 115 a 135 kcal/kg/dia e 3 a 4 g/kg/dia de proteína. O crescimento observado por estes autores foi abaixo do esperado, porém, comparável com outros estudos de crianças gravemente enfermas como citado em seu estudo. Os RNPT ganharam em média 8,2 a 9,7 g/kg/dia em peso, 0,8 a 1 cm/sem em comprimento e 0,45 a 0,6 cm/sem em perímetro cefálico. Quando comparamos os resultados observados por estes autores com os resultados encontrados no presente estudo observamos que no grupo LH+SH, a taxa de ganho de peso e perímetro cefálico foi maior, e no grupo LH+FM85[®] observamos somente que o ganho de peso foi maior, apesar de não haver severidade no quadro clínico dos grupos estudados.

O ganho insatisfatório em perímetro cefálico no estudo de Loui *et al.* (2008) como no grupo LH+FM85[®] é preocupante, pois pode refletir em longo prazo no desenvolvimento neuropsicomotor das crianças acompanhadas. (PETERSON *et al.* 2006; COOKE *et al.*, 2001, BRANDT *et al.*, 2003).

No presente estudo, o único parâmetro de crescimento que apresentou diferença significativa entre os dois grupos estudados foi o crescimento do perímetro

cefálico. Provavelmente a interação dos nutrientes adicionados ao LH pelo SH promova melhor biodisponibilidade e melhor absorção destes, com incorporação tecidual maior.

O ganho em perímetro cefálico maior no LH+SH não pode ser explicado pelo maior aporte de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, pois teoricamente tanto o SH quanto o FM85[®] não acrescentam gordura ao LH. A qualidade melhor dos aminoácidos ofertados pelo suplemento homólogo com provável suprimento maior de determinados aminoácidos em detrimento de outros, pode estar implicada no melhor crescimento cerebral (WHARTON *et al.*, 2004).

No caso do enriquecimento protéico feito pelo FM85[®], a proteína utilizada é de origem bovina, hidrolisada e, portanto, composta de peptídeos e aminoácidos e a absorção destes pode não ser adequada, provocando irregularidades nos aminoácidos plasmáticos (RIGO; SENTERRE, 1994). Fato comprovado pelo estudo de Santos *et al.*, (2007) que avaliou o perfil de aminoácidos sanguíneo de RNPT alimentados com leite humano acrescido de FM85[®], e observou que há necessidade da melhor adequação da proteína ofertada por este suplemento.

Moro *et al.* (1989) e Polberg *et al.* (1999) observaram que quando é utilizada a proteína derivada do leite humano ultra filtrada, para enriquecer o leite humano na alimentação de RNPT, o perfil de aminoácidos sanguíneos destas crianças, se assemelha ao perfil de aminoácidos encontrado em RNT alimentados com leite humano, considerado padrão ouro. Moro *et al.*, 1991, mostrou também que a modificação da proteína bovina com predomínio de proteína do soro, faz com que o perfil de aminoácidos seja semelhante ao das crianças alimentadas com proteína homóloga.

Lönnerdal (1985), em seu artigo de revisão expõe bem as propriedades e os benefícios das proteínas encontradas no leite humano, entre elas destacam-se fatores de defesa, enzimas digestivas, proteínas ligadoras específicas e fatores de crescimento, e observa que o significado de muitas das funções destas proteínas ainda é obscuro. Sabemos que apesar da inativação de algumas destas funções em decorrência dos processos utilizados para o preparo do SH, outras devem estar preservadas e podem ter contribuído para o melhor aproveitamento protéico e

crescimento dos RNPT alimentados com o leite humano enriquecido com o suplemento homólogo, assim pesquisas devem explorar a qualidade protéica deste suplemento e as interações nutricionais destas proteínas com outros nutrientes para conhecê-lo melhor.

No dia a dia a qualidade nutricional deve ser avaliada, examinando a quantidade de nutrientes ofertados e o ganho de peso individual. Sendo o aporte protéico menor que o recomendado, o fator principal da falha de crescimento pós-natal (OLSEN *et al*, 2002; CARLSON; ZIEGLER, 1998), a ingestão diária desse nutriente devem ser ajustadas individualmente.

Arslanoglu, Moro, Ziegler (2006) observaram que o ajuste protéico baseado na quantidade sanguínea de nitrogênio ureico permite um maior ganho de peso e perímetro cefálico quando comparado com crianças que receberam uma fórmula padronizada.

O ajuste protéico pode ser realizado com o uso de suplementos protéicos considerados “fortificantes” de 3ª geração, derivados da proteína do leite de vaca ou do leite humano. Considerando que o processo de ultra-filtração do leite humano para a separação da proteína necessita de equipamentos sofisticados, de alto custo, e grande quantidade de leite doado, os enriquecedores protéicos de origem heteróloga são os mais utilizados (ARSLANOGLU; MORO; ZIEGLER, 2006).

O acréscimo de maior quantidade protéica está relacionado à adição de maior quantidade do SH ao leite humano, o que conseqüentemente elevará a osmolalidade e inviabilidade de seu uso, ou com o aumento do volume ofertado aos RNPT. O acompanhamento de 15 dias não permitiu uma avaliação adequada do SH, pois não houve a possibilidade de observarmos o que aconteceria com volumes maiores do leite humano suplementado.

O SH proposto em nosso estudo poderá ser melhorado quanto ao seu conteúdo energético de maneira controlada, com a escolha de leite de banco com maior conteúdo energético e protéico para ser acrescido de SH ou adicionando, por exemplo, um grama de gordura extraída do próprio leite humano no processo de desnate. Haverá, assim o acréscimo de calorias e de AGPICKL que proporcionará um

melhor crescimento e desenvolvimento em longo prazo (TINOCO *et al.*, 2009). Outra maneira seria aumentar o conteúdo calórico, acrescentando polímeros de glicose ao SH, sem grande interferência na osmolalidade e com boa absorção (DE CURTIS *et al.*, 1986).

Tempo maior de observação, estudos do perfil de aminoácidos plasmático e do leite humano suplementado e estudos de balanço metabólico deverão ser realizados para avaliar o real aproveitamento dos nutrientes pelo RNMBP.

A superioridade do LH na alimentação de RNPT já esta bem documentada. Cockerill *et al.* (2006) em estudo retrospectivo dá suporte aos estudos de Lucas.*et al.* (1992); Lucas *et al.* (1994); Lucas *et al.* (1996) e Cooke *et al.* (2001) pela observação de que o LH tem impacto modulatório no crescimento cerebral e desenvolvimento, mesmo quando não promove grande ganho de peso, reforçando o conceito de que o ótimo crescimento pós-natal de prematuros de muito baixo peso ainda não é conhecido. Contribui para esta afirmação os achados de que acelerar o ganho de peso de RNMBP pode levar a consequências futuras em relação à obesidade, resistência insulínica, problemas cardiovasculares e dislipidemia (SINGHAL *et al.*, 2002; SOTO *et al.*, 2003, SINGHAL , 2003, HALES; OZANNE, 2003).

Fica claro que o conhecimento do que é ótimo para a nutrição de RNMBP ainda não é totalmente conhecido, enquanto isso a equipe neonatal deve estar compromissada com o que parece ser o ideal, que não cause alterações funcionais em curto prazo e traga melhor desenvolvimento em longo prazo. Neste aspecto enriquecer o leite humano com o suplemento contendo proteína homóloga, como o proposto neste estudo, parece ser apropriado.

6 CONCLUSÕES

A manipulação de um suplemento oriundo do próprio leite humano para a alimentação de recém nascidos de muito baixo peso, e a análise da tolerância gastrointestinal, crescimento e perfil bioquímico de RNMBP alimentados com este suplemento quando comparado com os alimentados com o suplemento FM85[®], possibilitou as seguintes conclusões:

- A quantidade de 5,49g de SH adicionado a 100ml de LH forneceu teor de proteína maior e de lipídios semelhante a 100ml de leite acrescido de 5g de FM85[®] e hidratos de carbono em menor quantidade.
- A quantidade de cálcio, fósforo, sódio, ferro, zinco nas amostras contendo SH encontram-se abaixo dos valores recomendados para suprir os requerimentos nutricionais dos RNMBP.
- A quantidade de cálcio, fósforo, sódio nas amostras contendo FM85[®], encontra-se dentro dos valores recomendados para suprir os requerimentos nutricionais dos RNMBP e a quantidade de ferro e zinco encontra-se abaixo dos valores recomendados.
- A quantidade de potássio e manganês encontrada nas amostras contendo SH e na contendo FM85[®] suprem as necessidades diárias recomendadas para RNMBP.
- A quantidade de cobre encontrada nas amostras contendo SH supre as necessidade do RNMBP e a encontrada nas amostras contendo FM85[®] encontra-se abaixo dos valores recomendados para RNMBP.
- Os valores encontrados de macronutrientes nas amostras contendo SH encontram-se dentro dos valores recomendados para alimentação de RNMBP e permitem a utilização deste suplemento.
- Os RNMBP alimentados com LH acrescido de SH devem receber suplemento maior de cálcio e fósforo.
- Há boa tolerância gastrointestinal ao LH acrescido de SH e FM85[®], pelos RNMBP
- O ganho em peso e em comprimento são semelhantes em RNMBP alimentados com LH acrescido de SH e de FM85[®]

- O ganho em perímetro cefálico foi maior em RNMBP alimentados com LH acrescido de SH

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS¹

Agget PJ. Trace elements of micropremie. Clin Perinatol. 2000;27:119-129.

Al Dahhan J, Haycock GB, Chantler C, Stimmler L. Sodium homeostasis in term and preterm neonates. I. Renal aspects. Arch Dis Child. 1983;58:335-342.

Al Dahhan J, Haycock GB, Nichol B, Chantler C, Stimmler L. Sodium homeostase in term and preterm neonates. II. Effect of salt supplementation. Arch Dis Child. 1984;59: 945-950.

Al Dahhan J, Jannoun L, Haycock GB. Effect of salt supplementation of newborn premature infants on neurodevelopment outcome at 10-13 years of age. Arch Dis Child Fetal Neonat. 2002;86:120-123.

Alexander GR, Hilmes JH, Kaufman RB, Moro J, Kogan MA. United States National reference for fetal growth. Obstet Gynecol. 1996;887:163-168.

Allen LH. Calcium bioavailability and absorption: a review. Am J Clin Nutr. 1982;35:783-808.

¹ Conforme Normas do Programa de Pós – Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Almeida JAG, Novak FR. Processamento e controle de qualidade do leite humano ordenhado. Brasília: Ministério da Saúde. 1999.

American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the use of human milk. Pediatrics [on line]. 2005 [acesso em 16 jun 2009]. Disponível em: <http://www.Pediatrics.org/cgi/content/full/115/2/496>.

American Academy of Pediatrics. Work Group on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. Pediatrics [on line]. 1997 [acesso em 6 mar 2006]. Disponível em: <http://www.Pediatrics.org/cgi/content/full/100/6/1035>.

American Academy of Pediatrics: Committee on Nutrition. Nutritional needs of low birthweight infants. Pediatrics.1985;75:976-986.

Anchieta LM, Xavier CC, Colosimo EA. Crescimento de recém-nascidos pré-termo nas primeiras 12 semanas de vida. J Pediatr (Rio J). 2004;80(4):267-276.

Anchieta LM, Xavier CC, Colosimo EA. Velocidade de crescimento de recém-nascidos pré-termo adequados para a idade gestacional. J Pediatr (Rio J). 2002;80(5):417-424.

Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference. J Perinatol. 2006;26:614-621.

Babson SG, Bramhill JL. Diet and growth in the premature infant. J Pediatr. 1969;74:890-895.

Ballard JL, Khoury JC, Wedig K. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr.* 1991;119:417-423.

Berry MA, Conrod H, Usher RH. Growth of very premature infants fed calcium-supplemented formula. *Pediatrics.* 1997;100:647-653.

Bertino A, Coscia M, Mombro L, Boni G, Rosseti C, Fabris E, *et al.* Postnatal weight increase and growth velocity of very low birth weight infants. *Arch Dis Child Fet Neon.* 2006;91:349-356.

Bhatia J, Rassin DK. Human Milk supplementation. *Am J Dis Child.* 1988;142:445-447.

Bishop N. Bone disease in preterm infants. *Arch Dis Child.* 1989;64:1403-1409.

Boehm G, Melichas V, Lorenz I, Müller D, Beyreiß K. Nutrition of newborns small for gestational age with human milk lyophilisate enriched human milk during the first week of life. *Acta Paediatr Hung.* 1985; 26(3):261-269.

Boehm G, Melichar V, Müller DM, Mikova M, Senger H, Beyreiß K. The application of redissolved human milk lyophilisate for nutrition of very low birth weight infants. *Acta Paediatr Hung.* 1987;28(34):267-272.

Boehm G, Müller DM, Senger H, Borte M, Moro EG. Nitrogen and fat balances in very low birth weight infants fed human milk fortified with human milk or bovine milk protein. *Eur J Pediatr.* 1993;152:236-239.

Braga LPM, Palhares DB. Effect of evaporation and pasteurization in the biochemical and immunological composition of human milk. J Pediatr (Rio J). 2007; 83(1):59-63.

Bronner F. Calcium absorption – A paradigm for mineral absorption. J Nutr [on line]. 1998 [acesso em 14 abr 2009]. Disponível em: <http://www.jn.nutrition.org>.

Brandt I, Sticker EJ, Lentze MJ. Catch-up growth of head circumference of very low birth weight, small for gestational age preterm infants and mental development to adulthood. J Pediatr. 2003;142:463-468.

Camelo Jr JS, Martinez FE. Nutritional dilemmas in extremely low birth weight infants and their effects on childhood, adolescence and adulthood. J Pediatr (Rio J). 2005;81(suppl1):33-42.

Camelo Jr JS, Martinez FE. Lactoengenharia do leite humano. In:Pereira GR, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. Nutrição do recém-nascido pré-Termo. Rio de Janeiro: Medbook; 2008. p.11-29.

Canadian Paediatric Society: Nutrition Committee. Nutrient needs and feeding of premature infants. Can Med Assoc J. 1995;152:1765-1785.

Cavalcante JLP, Telles FJS, Peixoto MMLV, Rodrigues RCB. Uso de acidez titulável no controle de qualidade do leite humano ordenhado. Cienc. Tecnol. Alim. 2005;25(1):103-108.

Carlson SJ, Ziegler EE. Nutrient intakes and growth of very low birth weight infants. J Perinatol. 1998;18:252-258.

Clark RM, Hundrieser KH, Ross S, Brown PB. Effect of temperature and length of storage on serum stimulated and serum-independent lipolytic actives in human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984;3:567-570.

Cockerill J, Uthaya S, Doré CJ, Modi N. Accelerated postnatal head growth follows preterm birth. *Arch Dis Child Fet Neo ed.* 2006;91:184-187.

Committee on Nutrition of Preterm Infant: European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Nutrition and feeding preterm infants. *Acta Paediatr Scand.* 1987;338(Suppl):1-14.

Contreras LJ, Flores HS, Cisneros SI. Disminucion de la morbilidad em neonatos pré-termino alimentados com leche de su propria madre. *Biol Med Hosp Infant Mex.* 1992;49:671-677.

Cooke RJ, Embleton ND, Griffin IJ, Wells JC, McCormick KP. Feeding preterm infants after hospital discharge: growth and development at 18 months of age. *Pediatr Res.* 2001;49:719-722.

Day GM, Radde IC, Ballfe JW, Change GW. Electrolyte abnormalities in very low birth weight infants. *Pediatr Res.* 1976;10:522-526.

De Curtis M, Candusso M, Pieltrain C, Rigo J. Effect of fortification on the osmolality of human milk. *Arch Dis Child Fetal Neon.* 1999;81:141-143.

Edmond K, Rajiv B. Optimal feeding of very low birthweight: technical review. *World Health Organization;* 2006; 1-121.

Ehrenkranz RA. Iron requirements of preterm infants. *Nutrition*. 1994; 10:77-78.

Ehrenkranz RA, Youn N, Lemons JA, Fanaroff AA, Donovan EF, Wright LL, *et al.* Longitudinal growth of hospitalized very low birthweight infants. *Pediatrics*. 1999;104:(2) 280-289.

Farrag HM, Cowett RM. Glucose Homeostasis in the micropremie. *Clin Perinatol*. 2000; 27(1):1-11.

Figueiredo CSM, Palhares DB, Melnikov P, Moura AJCM, Santos SC. Zinc and copper concentration in human preterm milk. *Biol trace Elemem Res*. No prelo. 2009.

Food and Agriculture Organization of the United Nation: Rome, FAO, 2003. Food energy – methods of analysis and conversion factors. Report of a technical workshop. FAO, Food and nutrition paper n. 77.

Fomon SJ, Ziegler EE, Vazquez HD. Human milk and the small premature infants. *Am J Dis Child*. 1977;131:463-467.

Gaull GE, Rassin DK, Raihä NCR, Heimnonem K. Milk protein quantity and quality in low birth weight infants. III. Effects on sulfur amino acids in plasma and urine. *J Pediatr*. 1977; 90(3):348-355.

Georgieff MK. Metabolismo perinatal do ferro e suplementação de ferro no recém-nascido pré-termo extremo. In: Pereira G, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. *Nutrição do recém-nascido pré-termo*. Rio de Janeiro: Medbook; 2008 .p.127-140.

Gianini NM, Vieira AA, Moreira ME. Avaliação dos fatores associados ao estado nutricional na idade corrigida de termo em recém nascido de muito baixo peso. J Pediatr (Rio J). 2005; 81(1):34-40.

Giles E, Doyle LW. Zinc extremely low birth weight or very preterm infant. Neoreviews [on line]. 2007 [acesso em set 2009]. Disponível em: [HTTP://neoreviews.aapublications.org](http://neoreviews.aapublications.org).

Giugliani ERJ. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano do Brasil: Tecnologia para exportar. J Pediatr (Rio J). 2002;78(3):183-184.

Gonçalves AB, Gonçalves AI, Martinez FE, Camelo Jr JS. Alimentação do recém-nascido pré-termo. In: Monteiro JP, Camelo Jr JS. Caminhos da nutrição e terapia nutricional: da concepção à adolescência. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan; 2007.p. 132-151.

Gordon HH, Levine SZ, Deamer WC, Macnamara H. Respiratory metabolism in infancy and childhood. XXIII Daily energy requirements of premature infants. Am J Dis Child. 1940; 59:1185-1202.

Greer FR. Feeding the premature infant in the 20th century. J Nutr. 2001;131:426-430.

Hagelber S, Lindbland A, Lundsjo A, Carlsson B, Fonden R, Fujita H, *et al*. The protein tolerance of very low birth weight infants fed human milk protein enriched mother's milk. Acta Paediatr Scand. 1982;71:597-601.

Hales CN, Ozanne SE. The dangerous road of catch-up growth. *J Physiol* 2003; 547:5-10.

Hay Jr, Lucas A, Heird WC, Ziegler E, Levin E, Grave GD. Workshop Summary: Nutrition of the extremely low birthweight infant. *Pediatrics*. 1999;104:1360-1368.

Heck A. Banco de leite humano. In: Monteiro JP, Camelo Jr JS. Caminho da nutrição e terapia nutricional: da concepção a adolescência. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.p.152-189.

Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo: IMESP, 1985.

Kalhan SC, Iben S. Protein metabolism in the extremely low birthweight infant. *Clin Perinatol*. 2000;27(1):23-56.

Kaminski MV Jr, Williams SD. Review of the rapid normalization of serum albumin with modified total parenteral nutrition solutions. *Crit Care Med*. 1990;18(3):327-335.

Kashiap S, Schulze KF, Forsyth M. Growth, nutrient retention and metabolic response of low birth weight infants fed supplemented and unsupplemented preterm human milk. *Am J Clin Nutr*. 1990; 52:254-262.

Ketut DKW, Soetjining SIG, Suandi IKG; Hamid HA. The efficacy of fortified human milk compared to human milk alone for the growth of low birth weight infants. *Paediatr Indones*. 2003;43:9-10.

Klein CJ. Nutrient requirements for preterm infant formula. *J Nutr.* 2002;132:1395-1577.

Kuschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth preterm infants (Cochrane Review). Disponível em: *The Cochrane Database*, 2006, Issue 1. Art. No.: CD000343. DOI: 10.1002/14651858.CD000343.pub2

Lepage G, Collet S, Bouge D, Kien LC, Lepage D, Dallaire L, *et al.* The composition of preterm milk in relation to the degree of prematurity. *Am J Clin Nutr.* 1984;40:1042-1049.

Liebhaer M, Asquith M, Olds - Arroyo L, Sunshine P. Alterations of lymphocytes and of antibody content of human milk after processing. *J Pediatr.* 1977;91:897-900.

Lien EL. Infant formulas with increased concentrations of α -lactalbumin. *Am J Clin Nutr* [on line]. 2003 [acesso em 8 ago, 2009]. Disponível em: <http://www.ajcn.org>.

Lönnerdal B. Bioavailability of Cooper. *Am J Clin Nutr* [on line]. 1996 [acesso em 5 Abr 2009]. Disponível em: <http://www.ajcn.org>.

Lönnerdal B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* [on line]. 1985 [acesso em 5 abr 2009]. Disponível em: <http://www.ajcn.org>.

Lönnerdall B. Trace element nutrition of infants-molecular approaches. *J Trace Elem Med Biol.* 2005; 19: 3-6.

Loui, A, Tsalikaki E, Maier K, Walch E, Kamarianakis Y, Obladen M. Growth in high risk infants < 1500g birthweight during the first 5 weeks. *Early Hum Dev.* 2008;84(10):645-650.

Loui A, Raab A, Obladen M, Brätter P. Calcium, phosphorus and magnesium balance: FM85 fortification of human milk does not meet mineral needs of extremely low birthweight infants. *Europ J Clin Nutr.* 2002;56:228-235.

Lucas A, Fewtrell MS, Morley R, Lucas PJ, Baker AB, Lister G, *et al.* Randomized outcome trial of human milk fortification and developmental outcome in preterm infants. *Am J Clin Nutr.* 1996;64:142-151.

Lucas A, Lucas PJ, Chavin SI, Lyster RLJ, Baum JD. A human milk formula. *Early Hum Dev.* 1980;4(1):15-21.

Lucas A, Morley R, Cole TJ, Lesson-Payne C. Breast Milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet.* 1992;339:261-264.

Lucas A, Cole TJ. Breast Milk and neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet.* 1990;336:1519-1523.

Lucas A, Morley RM, Cole TJ, Gore SM. A randomized multicentre study of human milk versus formula and later development in preterm infants. *Arch Dis Child.* 1994;70:141-6.

Macleane Jr WC, Fink BB. Lactose malabsorption by premature infants: Magnitude and clinical significance. *J Pediatr.* 1980;97:383-88.

Martell M, Gavinica J, Behtzsky R. Nueva forma de evaluacion del crecimiento pos natal hasta los dos años de vida: A new form of evaluating pos natal growth during the 1st 2 years of life. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP). 1979;86 (2):95-104.

Martinez FE, Camelo Jr JS. Alimentação do recém-nascido pré-termo. J Pediatr (Rio J). 2001;77(suppl1):32-40.

Mataloun MMGB, Catache M, Leone CR. Mineralização óssea e oferta mineral de cálcio e fósforo em recém-nascidos pré-termo extremo. In: Pereira GR, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. Nutrição do recém-nascido pré-termo. Rio de Janeiro: Medbook; 2008 .p. 99-126.

Mataloun MMGB, Leone CR, Ono N, Costa Vaz FA. Repercussões neonatais do uso de leite materno com aditivos e fórmula para pré-termo em recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer. Pediatria (SP). 2004;26(4):247-256.

Mena PM. Ácidos Graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPICL): seus efeitos no recém-nascido pré-termo. In: Pereira GR, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. Nutrição do recém-nascido pré-termo. Rio de Janeiro: Medbook; 2008. p. 69-79.

Modi N. Sodium intake and preterm babies. Arch Dis Child. 1993;69:87-91.

Morley R, Lucas A. A nutrition and cognitive development. Br Med Bull. 1997;53:123-134.

Moro EG, Fulconis F, Minoli I, Pohlandt F, Raihä NCR. Growth and plasma aminoacid concentrations in very low birthweight infants fed either human milk fortified with human milk protein or a whey predominant formula. *Acta Paediatr Scand.* 1989;78:18-22.

Moro EG, Minoli I, Fulconis F, Clements M, Raihä NCR. Growth and metabolic responses in low birth weight infants fed human milk fortified with human milk protein or with a bovine milk protein preparation. *J Pediatr Gastr Nutr.* 1991;13(2):150-154.

Moro EG, Minoli I. Enriquecimento do leite humano: Nutrition of very low birth weight preterm infants. *Nestlé Nutrition workshop series .n. 43.* Vevey: Nestec Ltda.;1998 .p. 18 -19.

Moura ACM, Melnikov Petr. Determinação de Elementos traço no Leite Materno [Tese]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2006.

Nail SL, Jiang S, Chiopresert S, Kigr SA. Fundamental of freeze drying. *Pharm Biotechnol.* 2002;14: 281-360.

Neville MC, Keller RP, Seacat J, Casey CE, Allen JC, Archer P. Studies of human lactation. I. Within-feed and between breast variations in selected components of human milk. *Am J Clin Nutr.* 1984;40:635-646.

Newell SJ. Enteral feeding of the micropremie. *Clin Perinatol.* 2000; 27:221-234.

Novak FR, Almeida JAG. Teste alternativo para a detecção de coliformes em leite humano. *J Pediatr (Rio J).* 2002;78:587-591.

Oliveira ND, Myashi MH. Avanços em enterocolite necrosante. J Pediatr (Rio J). 2005;81(1):16-22.

Olsen IE, Richardson DK, Schimid CH, Ausman LM, Dwyer J. Intersite differences in weight growth velocity of extremely premature infants. Pediatrics. 2002; 110(6):1125-1132.

Ornelas SL, Xavier CC, Colosimo EA. Crescimento de recém-nascidos pré-termo pequenos para a idade gestacional. J Pediatr (Rio J). 2002;78(3):230-236.

Palhares DB, Jorge SM, Gonçalves AL, Martinez FE. Aminoácidos plasmáticos de recém-nascidos pré-termo alimentados com leite humano de banco ou uma fórmula do leite de vaca. J Pediatr (Rio J). 1990;66:188-192.

Pereira G. Avaliação nutricional no recém-nascido pré-termo. In: Pereira GR, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. Nutrição do recém-nascido pré-termo. Rio de Janeiro: Medbook; 2008 .p. 241-261.

Pereira GR, Barbosa NMM. Controversies in neonatal nutrition. Pediatr Clin North Am. 1986;33(1):65-89.

Pereira GR, Nieman L. Métodos de nutrição por via enteral em recém-nascido pré-termo. In: Pereira GR, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. Nutrição do recém-nascido pré-termo. Rio de Janeiro: Medbook; 2008. p. 31 – 43.

Peterson J, Taylor HG, Minich N, Klein N, Hack M. Subnormal head circumference in very low birth weight children: neonatal correlates and school-age consequences. *Early hum dev* 2006;82:325-334.;

Polberg STK, Axelson IE, Raiha NCR. Aminoacid concentrations in plasma and urine in very low birth weight infants fed protein-unenriched or human milk protein-enriched human milk. *Pediatrics*. 1990;86:909-915.

Putet G. Lipid metabolism of the micropremie. *Clin Perinatol*. 2000; 27(1):57-69.

Quigley M, Henderson G, Anthony MY, McGuire W. Formula Milk versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants (Review). Disponível em: *The Cochrane Library* 2009. Issue 4. Art. No.: CD002971. DOI: 10.1002/14651858.CD002971.pub2.

Raihä NCR, Heinonen K, Rassin DK, Gaul GE. Milk protein quantity in low birth weight infants: I. Metabolic responses and effects on growth. *Pediatrics*.1976;57:659-674.

Raschko PK, Hiller JL, Benda GL. Nutrition balances studies of very low birth weight infants fed their mothers milk fortified with a liquid human milk fortifier. *J Pediatr Gastr Nutr*. 1989;9:212-218.

Rassin DK, Gaul GE, Raihä NCR, Heinonen K. Milk protein quantity and quality in low birth weight infants. IV. Effects on tyrosine and phenylalanine in plasma and urine. *J Pediatr*. 1977;90:356-360.

Rechtman DJ, Lee ML, Berg H. Effect of environmental conditions on unpasteurized donor human milk. *Breastfeeding Med.* 2006;1:24-26.

Rigo J, Senterre J. Metabolic balance studies and plasma amino acid concentration in preterm formulas. *Acta Paediatr Suppl.* 1994;405:98-104.

Rigo J, Senterre J. Nutritional needs of premature infants: Current Issues. *J Pediatr.* 2006;149:80-88.

Ronnhölm KAR, Perheentuppa J, Siimes MA. Supplementation with human milk protein improves growth of small premature infants fed human milk. *Pediatrics.* 1986;77: 649-653.

Rugolo LMSS, Bentlin MR, Rugolo Jr A, Dalben I, Trindade CEP. Crescimento de prematuros de extremo baixo peso nos primeiros dois anos de vida. *Rev Paul Pediatría.* 2007;25(2):142-9.

Sandström O, Lönnerdal B, Graverholt G, Hernell O. Effects of α -lactalbumin-enriched formula containing different concentrations of glycomacropeptide on infant nutrition. *Am J Clin Nutr* [on line]. 2008 [acesso em 13 set 2009]. Disponível em: <http://www.ajcn.org>.

Santos MM, Martinez FE. Human milk concentrate for preterm infants. *Nutr Res.* 1996;16(5):769-772.

Santos SC, Figueiredo CM, Andrade SMO, Palhares DB. Plasma amino acids in preterm infants fed different human Milk bank. *Eur J Clin Nutr Met.* 2007; 2: 51-56.

Schanler RJ, Oh W. Composition of breast milk obtained from mothers of premature infants compared to breast milk obtained from donors. *J Pediatr*. 1980;96:679-681.

Schanler RJ, Oh W. Nitrogen and mineral balance in preterm infants fed human milks or formula. *J Pediatr Gastr Nutr*. 1985;4:214-219.

Schanler RJ, Lau C, Hurst NM, O'Brian RS. A randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitute for mother's own milk in the feeding of extremely premature infants. *Pediatrics*. 2005;116:400-406.

Schanler RJ. Evaluation of the evidence to support current recommendations to meet the needs of premature infants: The role of human Milk. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(suppl): 625-628.

Schanler RJ. Suitability of human milk for the low birth weight infant. *Clinic Perinatol*. 1995;22(1):207-221.

Scott CD. Regulation of proteolysis and optimal parenteral nutrition accretion in extremely premature newborns. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(suppl):621-624.

Shott S. *Statistics for health professionals*. London: W. B. Saunders Company, 1990.

Singhal A, Farrooqi S, O'Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. *Am J Clin Nutr*. 2002;75:993-999.

Singhal A, Fewtren M, Cole TJ, Lucas A. Low nutrient intake and early growth for later insulin resistance in adolescence born preterm. *Lancet*. 2003;361:1089-1097.

Soto N, Bazares RA, Pena V. Insulin sensitivity and secretion are related to catch-up growth in small for gestational age infants at age 1 year: results from a prospective cohort. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3645-3650.

Thomaz ACP, Gonçalves AL, Martinez FE. Effects of human milk homogenization on fat absorption in very low birthweight infants. *Nutr Res.* 1999;19(4):483-492.

Thureen PJ, Melara D, Feeneseey PV, Hay WJ. Effect of low versus high protein intake on very low birth weight infants in the early neonatal period. *Pediatr Res.* 2003;53:24-32.

Tinoko SMB, Sichieri R, Setta CL, Moura AS, Tavares do Carmo MG. ω -3 polyunsaturated fatty acids in Milk is associate to weight to weight gain and growth in premature infants. *Lipids Health Dis.* 2009;8:23-31.

Trindade CEP. Microelements and vitamins in the nutrition of very low birthweight preterm infants: a Brazilian perspective. *Neoreviews* [on line]. 2007 [acesso em set 2009]. Disponível em: [Http://neoreviews.aapublications.org](http://neoreviews.aapublications.org).

Tsang RC, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S. *Nutritional Needs of The Preterm Infants: Scientific Basis and Practical Guidelines.* Baltimore, Willians &Wilkins;1993:296.

Uauy RD, Birch DG, Birch EE. Effect of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very low birth weight neonates. *Pediatr Res.* 1990;28:485-492.

Xavier CC, Anchieta LM, Ornelas SL. *Crescimento do Recém-nascido pré-termo.* São Paulo; Nestlé; 2004.24p. (Temas de pediatria, 77).

Wardell JM, Wright AJ, Bandsley D, Souza SW. Bile salt stimulated lipase and esterase activity in human milk after collection storage and phosphorus by preterm infants. Arch Dis Child. 1978; 53:555-563.

Wharton BA, Morley R, Isaacs EB, Cole TJ, Lucas A. Low plasma taurine and later neurodevelopment. Arch Dis Child Fet Neo Ed. 2004;89:497-498.

Wegman ME. Infant mortality in the 20th century, dramatic but uneven progress. J Nutr. 2001;131:401-408.

Young TE. Prolact+ H²MFTM Human Milk Fortifier. NEOFAX[®] Twenty-second ed: 2009. p. 321-7.

Ziegler EE. Protein in premature feeding. Nutr. 1994;10:69-72.

APENDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Todos os recém-nascidos precisam do leite humano para poder crescer, os prematuros precisam de leite humano, de preferência o de sua mãe. Quando isso não é possível há necessidade de utilizarmos leite do banco de leite. Alguns trabalhos têm demonstrado que acrescentar a este leite, fortificantes, pode fazer as crianças ganharem peso mais rapidamente. Os prematuros também precisam fazer exames de sangue para saber como está a sua nutrição. Todos estes cuidados são recebidos pelos bebês internados na Neonatologia do HU. Os médicos do setor estão sempre procurando os melhores tratamentos e estudam o ganho de peso, o crescimento, os resultados dos exames de todos os bebês.

Quando o bebê estiver estável, usando como alimento apenas um dos leites recomendados para os prematuros: Leite humano de banco acrescido com leite humano liofilizado após extração de gordura e lactose ou leite humano acrescido de FM85, faremos um acompanhamento do crescimento por 15 dias. Neste período serão colhidas amostras de sangue conforme a rotina do berçário intermediário.

Estaremos juntando todos estes resultados, sobre peso, comprimento, perímetro cefálico e de análise bioquímica para servir de estudo que venha melhorar ainda mais a assistência aos prematuros. Se em algum momento do estudo, notarmos haver mais benefícios em um alimento que em outro, comprovado por métodos estatísticos, optaremos pela alimentação de todos os prematuros com este tipo de nutriente.

Estamos assim solicitando a autorização do responsável pelo RN

Para que possamos utilizar seus dados para o referido estudo.

O responsável pode retirar o seu consentimento a qualquer momento, se assim desejar, sem alterações no tratamento que receberia normalmente pela equipe do serviço de neonatologia. Serão utilizados, com sigilo, apenas os dados do paciente e não seu nome garantindo a sua privacidade. Os médicos responsáveis pelo estudo, que estarão á disposição para qualquer esclarecimento, são:

Débora Marchetti Chaves Thomaz

Professor, Dr. Durval Batista Palhares

Termo

Eu, responsável pelo paciente _____, RG no HU de número _____, voluntariamente dou o meu consentimento para a sua participação no estudo “Leite humano acrescido de suplemento do próprio leite humano liofilizado na alimentação de recém-nascidos de muito baixo peso”. Conheço os objetivos e estou ciente de sua duração.

Campo Grande- MS, _____, de _____ de _____

Assinatura: _____

APENDICE B – Características clínicas dos RNMBP nos dois grupos estudados (GI – alimentado com SH/ GII – alimentado com FM85[®])

GI	SEXO	IG	P/IG	DIAS VM	I NUT ENT MIN	NUT ENT	V (ml/kg/dia)	kcal/kg/dia
1	F	29	AIG	8	2	11	213,23	154,1
2	F	30	AIG	8	3	11	209,4	151,33
3	M	29	PIG	24	9	26	132,98	96,1
4	F	30	AIG	5	2	13	138,47	100,07
5	M	28	AIG	18	3	23	157,85	114,08
6	F	31	PIG	6	4	14	158,48	114,53
7	F	29	PIG	24	18	26	160,33	115,87
8	F	29	PIG	19	2	18	160	115,63
9	M	29	AIG		2	11	164,87	119,15

GII	SEXO	IG	P/IG	DIAS VM	I NUT ENT MIN	NUT ENT	V (ml/kg/dia)	kcal/kg/dia
1	F	31	AIG	22	3	40	194,33	158,67
3	M	29	PIG	6	2	32	194,02	158,42
4	M	30	PIG	5	2	13	161,19	131,61
5	M	28	AIG		2	11	179,69	146,72
6	M	31	PIG	7	2	30	207	169,01
7	M	31	AIG		7	11	145,94	119,16
8	M	30	AIG		2	10	130	106,14
10	F	30	PIG		2	10	131	106,96
11	F	30	AIG	9	7	13	158	129
12	F	32	PIG		2	7	176	143,7

APÊNDICE C – Características de análise bioquímica dos RNMBP nos dois grupos estudados (GI – alimentado com SH/GII – alimentado com FM85[®])

GI	U mg/dl		Creat mg/dl		Na mEq/l		K mEq/l		P mg/dl		Ca mg/dl		Mg mg/dl	
	1 ^a	2 ^a												
1	9	17	0,6	0,6	140	129	4,7	4,8	4,5	4,4	9,8	9,9	1,6	1,5
2	63	11	0,4	0,3	138	135	6,6	5,2	6,7	6,1	9,9	9,6	1,7	2
3	8	22	0,3	0,2	133	135	6	4,7	3,3	2,8	9,1	9,9	2	2,1
4	19	15	0,5	0,6	132	131	4,4	4,1	3,4	4,8	9,8	10	1,3	1,7
5	20	8	0,7	0,5	130	147	4,5	4,2	4	5,4	9	9,7	2,4	2,4
6	18	9	0,7	0,3	138	137	6	4,8	4,6	6,5	10,1	9,4	2,6	2,5
7	21	9	0,2	0,3	133	140	5,5	4,6	4,2	5,5	9,6	9,6	1,8	2,7
8	12	38	0,4	0,8	130	142	4,2	4	4,9	5,3	9,2	9,7	2,1	3,5
9	11	12	0,6	0,6	135	138	5	4,8	6,1	6,3	9,4	9,7	2,2	2,3
GII	1 ^a	2 ^a												
1	4	7	0,4	0,3	140	141	4,6	5,1	5,7	6,4	8,5	8,4	2,3	2,1
3	5	14	0,3	0,4	137	131	4,9	4,4	6,6	6,8	10,4	10	1,9	1,8
4	41	19	0,6	0,4	155	139	4,4	4,3	6,9	5,7	12	10	2,2	1,8
5	52	15	0,5	0,4	142	139	6,4	5,2	4,5	7,8	9	10	3,1	1,6
6	7	8,7	0,4	0,2	137	133	4,9	5,8	3,4	7,4	9,8	10	2,1	1,8
7	5	20	0,6	0,5	136	141	4,8	4,5	7,3	7	11,8	9,7	1,7	
8	17	14	1	0,8	134	136	5,4	3,9	3,9	6,4	11,1	9,7	2,6	1,7
10	9	8	0,4	0,4	142	141	5	4,9	3,1	3,3	8,5	9,2	1,6	1,5
11	53	12	0,7	0,4	136	146	4,2	5,1	6,9	6,5	11,1	11	3,5	4,1
12	17	24	1	0,8	132	136	5,3	5,3	3,7	7,6	10,8	10	2,3	1,8

GI	FA U/l		ALB g/dl		AST U/l		ALT U/l		TG mg/dl		HT %		HB g/dl	
	1 ^a	2 ^a												
1	297	453	2,9	2,8	20	28	36	23	94	186	34	33	12	11,5
2	354	336	3,2	2,8	35	47	51	32	91	103	40	33	13,3	11,7
3	512	641	2,7	3	64	223	157	254	124	87	30	25	10,2	8,6
4	536	543	2,7	3,1	29	23	25	23	118	115	35	29	12,1	10
5	224	560	2,7	2,6	18	26	10	10	218	80	31	29	10,3	9,6
6	450	427	3,6	3,1	12	7	34	26	47	44	34	32	11,9	10,6
7	393	394	2,6	2,8	39	17	32	25	109	150	51	31	17,3	10,5
8	309	473	3,4	3,2	19	13	21	62	128	82	43	42	15,6	14,1
9	398	328	3,2	3,1	4	7	14	14	47	25	30	25	10,2	8,7
GII	1 ^a	2 ^a												
1	691	453	2,3	2,4	21	24	25	48			27	36	9,3	11,6
3	335	301	2,2	2,9	20	30	26	33	69	72	29	27	9,3	8,7
4	287	379	2,3	3,1	47	61	19	32	161	173	35	29	11,1	9
5	225	178	2,7	2,8	25	23	38	30		58	37	9,7	12,1	29
6	180	289	2,3	2,5	56	58	37	35	180	119	25	31	8,4	7,9
7	223	260	3,2	3,3	25	22	39	34	90	127	39	29	13	9,7
8	257	145	2,7	2,6	58	23	118	24	52	47	141	6,4	14,2	19
10	260	373	1,9	2	19	23	35	26	108	126	22	20	7,3	7
11	592	465	3,5	3,8	20	33	8	14	88	112	28	42	9,8	14,6
12	298	380	3,2	3,1	40	42	16	18	75	101	48	35	16,4	12

APENDICE D – Características de crescimento dos RNMBP dos grupos estudados (GI – alimentado com SH/GII – alimentado com FM85[®]).

GI	PN	PESO			COMP			PC		
		1º	2º	3º	1º	2º	3º	1º	2º	3º
1	1100	1160	1360	1535	36,5	38,6	39,5	27,5	28,2	29,5
2	1350	1330	1350	1492	41	41,3	41,8	25,8	28,8	29,5
3	650	830	960	980	32,1	32,6	33,5	25	25,7	26
4	1180	1350	1380	1430	38,3	39,5	40,8	29	29,7	30,5
5	890	975	1160	1210	37	38	38,2	25,4	26,4	27,4
6	1010	1055	1160	1320	37,1	39	39,7	26,4	27	29
7	800	1085	1205	1295	36,5	37,8	38,7	26,5	27,1	28
8	825	990	1045	1090	36,3	37	37,5	26	27	27,3
9	1100	990	1240	1290	37,3	37,5	38	27	27,5	28

GII	1º	2º	3º	1º	2º	3º	1º	2º	3º	
2	1270	1385	1650	1755	41	41,5	42	30	30,5	31
3	960	1370	1445	1670	41	41,5	42,7	29,6	30	30,3
4	900	935	1070	1160	35,5	37,3	38,4	25	26,5	26,7
5	1190	1315	1395	1665	38	39,6	41,3	25,7	27,4	29
6	1030	1335	1420	1430	39,7	40	40,3	29	29	29,5
7	1250	1420	1435	1560	38	38,2	40	26,5	27	28
8	1140	925	1040	1205	34,5	36,3	36,7	27	27,3	28
9	895	1140	1170	1200	37,8	38,3	39	26,5	26,8	27
10	1210	1140	1380	1470	39,5	41,4	41,5	28	29	31,5
11	1200	1120	1270	1280	39	39,5	40,5	27	27,3	28



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS



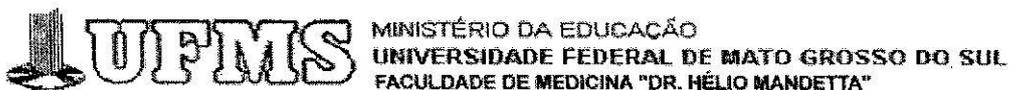
Carta de Aprovação

A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 806 da Pesquisadora Débora Marchetti Chaves Thomaz intitulado "Alimentação de prematuros com leite humano de banco de leite acrescido de leite humano liofilizado após extração de gordura e lactose" e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião Ordinária no dia 31 de julho de 2006, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.


Prof. Odair Pimentel Martins
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 01 de agosto de 2006.

ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética



RESOLUÇÃO N° 017 DE 22 DE FEVEREIRO DE 2006

O Presidente da Congregação da Faculdade de Medicina "Dr. Hélio Mandetta" da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no uso de suas atribuições legais, em reunião ordinária realizada no dia 22 de fevereiro de 2006,

RESOLVE:

Aprovar o Projeto de Pesquisa, em nível de doutorado, intitulado "**Alimentação de Prematuros com Leite Humano de Banco de Leite Acrescido de Leite Humano Liofilizado Após a Extração de Gordura e Lactose**", sob a responsabilidade da servidora Téc. Administrativo Débora Marchetti Chaves Thomáz, sob a orientação do Prof. Dr. Durval Batista Palhares.



Prof. Pedro Rippel Salgado
Presidente da Congregação da FAMED/UFMS

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)