

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

"ESTUDOS SOBRE A PRESERVAÇÃO DO
COLOSTRO HUMANO PARA BANCOS DE
LEITE"

MARIA ALICE ALTENBURG DE ASSIS
Farmacêutico-Bioquímico

Orientador: Prof^º OTTÍLIO GUERNELLI

Tese Apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e
Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, para obten
ção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

- 1981 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

AGRADECIMENTOS

- Ao orientador Professor Dr. Ottílio Guernelli, pelos valio
sos ensinamentos e apoio durante toda a realização deste
trabalho.
- Às doadoras do leite humano, meu especial agradecimento.
- Ao Dr. Paulo de Araújo pela contribuição e interesse.
- Ao Dr. José Martins Filho pela amizade, colaboração e suges-
tões.
- Aos colegas e funcionários do Laboratório de Microbiologia
e de Imunologia, em particular ao Dr. Fumio Yokoya, Dr. Hum-
berto de Araújo Rangel e Sra. Rosa Tosello pelas facilida
des apresentadas ao autor.
- À Maria Lúcia Setina, Paulo Roberto Müller, Hércio João Mo-
reira da Silveira e Estela Vieira de Oliveira pelos auxí
lios prestados.
- Aos meus pais e avós, a minha homenagem.
- E ao Francisco pela compreensão e estímulo.

RESUMO

Com o crescente interesse em utilizar o colostro humano na dieta de recém-nascidos internados nas Unidades de Tratamento Intensivo dos hospitais e maternidades, surge a necessidade de se empregar métodos adequados para a preservação do mesmo em Bancos de Leite.

Estudou-se algumas alternativas de coleta, processamento tecnológico e estocagem do colostro de parturientes internadas em duas maternidades da cidade de Campinas.

Avaliou-se microbiológica e imunologicamente as diferenças encontradas, quando se levou em consideração a classe sócio-econômica da doadora, as técnicas de processamento tecnológico (congelamento, pasteurização e liofilização) e a estocagem no congelador ($-10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $-40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas.

Durante a coleta do colostro por métodos artificiais, o volume obtido variou significativamente segundo o período de lactação, a patologia da mama após o parto, tipo de parto e número de partos das doadoras.

Outras variáveis tais como a idade, doenças durante a gravidez, complicações após o parto e uso de drogas (cordicoides e antibióticos) pareceram não interferir no volume coletado.

O volume, a concentração de proteínas totais e os níveis de imunoglobulinas não diferiram significativamente quando se considerou a categoria social da doadora.

A maior ou menor contaminação microbiológica das amostras de colostro fresco foi atribuída aos métodos de esterilização da bomba ordenhadeira e o local de coleta, demonstrando a importância da coleta ser realizada sob rigorosa aspepsia.

O colostro das doadoras de ambas as maternidades, apresentaram níveis mais altos de IgA contrastando com as concentrações baixas de IgG e IgM.

A congelação e a liofilização inibiram a proliferação dos microorganismos presentes nas amostras frescas, reduzindo variavelmente os níveis de IgA, IgM e lisozima.

O colostro se manteve estocado no congelador até 12 semanas, a temperaturas abaixo de -10°C sem que houvesse perdas significativas de imunoglobulinas, podendo manter a qualidade microbiológica original e até melhorá-la.

A pasteurização ($62,5^{\circ}\text{C}$, durante 30 minutos) mostrou-se um método eficaz na diminuição da contaminação microbiana, causando algum decréscimo na concentração de IgA e reduzindo de maneira acentuada os níveis de IgM e lisozima.

SUMMARY

With the increasing interest in the application of human colostrum for the care of newly-born infants in the "Units of Intense Treatment" of Hospitals and Maternities, there is evident the need of applying proper technology for its preservation, for the Milk-Banks.

Ways of collecting, technology of preservation and storage of colostrum obtained from delivering-mothers of two hospitals in Campinas were studied.

An evaluation of the microbiological and immunological characteristics was made in accordance with the social-economical status of the mother, the technology of processing (freezing, freeze-drying, pasteurization) and storage under controlled temperatures ($-10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; $-40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) for 1 up to 12 weeks.

Based upon artificial methods of collecting colostrum, the obtained volume varies significantly with the period of lactation, the pathology of the mammary gland post-partum, type of deliverance and frequency of deliverance of the mother.

Variables such as age, diseases during pregnancy, complications after delivery, use of drugs such as corticoids and antibiotics seem not to interfere with the collected volume.

Volume, protein content and levels of immunoglobulins were shown not to differ significantly when the social status of the donor was considered.

Variations in the microbiological content of fresh colostrum is attributed to the inefficiency of sterilization of the collecting equipment and to environmental conditions, aseptic practices assuming top priority.

The colostrum obtained from mothers from two hospitals showed high levels of IgA and low levels of either IgG or IgM.

Freezing and freeze-drying besides controlling the microbiological population of the samples have shown to decrease the levels of IgA, IgM and lysozyme.

The colostrum stored in the freezer cabinet for up to 12 weeks (T lower than -10°C) showed no significant losses of immunoglobulins, retaining the quality of the original microbiological flora or even improving it.

Pasteurization ($62,5^{\circ}\text{C}$ for 30 minutes) has proved an efficient method of preservation, with a resulting mild decrease of the levels of IgA, although with higher losses of IgM and lysozyme.

Í N D I C E

	Página
INTRODUÇÃO -----	01
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	04
1. Considerações Gerais sobre o Aleitamento ao Seio Ma terno -----	04
2. Fatores que Interferem na Composição Qualitativa e Quantitativa do Leite Humano -----	07
3. Composição Bioquímica do Leite e Colostro Humano ----	15
3.1. Proteína -----	15
3.2. Gordura -----	18
3.3. Carboidrato -----	19
3.4. Vitaminas -----	20
3.5. Minerais -----	22
4. Fatores de Defesa Imunitária no Leite e Colostro Hu mano -----	23
4.1. Imunoglobulinas -----	23
4.2. Fator do Crescimento do <i>Lactobacillus bifidus</i> --	29
4.3. Fator Antiestafilocócico -----	30
4.4. Componentes do Sistema Complemento -----	30
4.5. Lisozima -----	31
4.6. Lactoperoxidase -----	31
4.7. Lactoferrina -----	32
4.8. Leucócitos -----	32
5. Importância da Utilização do Colostro na Alimentação dos Bebês Prematuros e de Baixo Peso -----	33
6. Bancos de Leite Humano -----	36
6.1. Histórico -----	36
6.2. Extração e Coleta do Leite -----	40

6.3. Controle da Qualidade Bacteriológica em Bancos de Leite Humano -----	41
6.4. Influência do Processamento e Estocagem sobre os Fatores Nutricionais e Imunológicos do Leite Humano -----	47
6.5. Montagem e Operacionalização dos Bancos de Leite Humano -----	50
MATERIAIS E MÉTODOS -----	52
1. Seleção das Doadoras e Coleta da Amostra -----	52
2. Recepção e Processamento -----	54
2.1. Congelação -----	54
2.2. Pasteurização -----	58
2.3. Liofilização -----	58
3. Dosagem de Proteínas -----	59
4. Análises Microbiológicas -----	59
4.1. Contagem Total de Bactérias Mesófilas -----	60
4.2. Determinação de Coliformes - Exame Presuntivo --	60
4.3. <i>Enterococcus</i> -----	61
4.4. Determinação e Identificação de <i>Staphylococcus aureus</i> -----	61
5. Análises Imunoquímicas -----	62
5.1. Determinação do Nível de Imunoglobulinas IgA, IgG e IgM -----	62
5.2. Purificação do IgA Secretória -----	63
6. Atividade de Lisozima -----	66
7. Análise Estatística -----	67
RESULTADOS -----	68
1. Determinação dos Fatores que Influenciaram na Coleta da Amostra -----	68
2. Análises Microbiológicas -----	73
3. Análises Imunoquímicas -----	88

3.1. Purificação do IgA secretória -----	88
3.2. Análises Imunoeletroforéticas -----	93
3.3. Quantificação da Imunoglobulinas IgA, IgG e IgM -----	97
4. Quantificação de Lisozima -----	102
DISCUSSÃO -----	106
1. A Coleta do Leite -----	106
2. Qualidade Microbiológica das Amostras Frescas e Pro_ cessadas -----	112
2.1. Amostras Frescas -----	112
2.2. Amostras Congeladas -----	121
2.3. Amostras Liofilizadas -----	125
2.4. Amostras Pasteurizadas -----	126
2.5. Controle de Qualidade Microbiológica do Colos_ tro Humano Fresco, Pasteurizado e Liofilizado -	127
3. Características Imunológicas das Amostras Frescas e Processadas -----	134
3.1. Amostras Frescas -----	136
3.2. Amostras Congeladas -----	137
3.3. Amostras Pasteurizadas -----	138
3.4. Amostras Liofilizadas -----	140
CONCLUSÕES -----	143
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	145
APÊNDICES - Apêndice 1	
Apêndice 2	
Apêndice 3	
Apêndice 4	

INTRODUÇÃO

O aleitamento ao seio materno, considerado essencial para o desenvolvimento do bebê, sofreu a partir da II Guerra Mundial um decréscimo acentuado, ocasião em que foram introduzidas no mercado as fórmulas industrializadas de alimentos infantis.

No Brasil, os resultados negativos provenientes do desmame precoce, foram identificados com o aumento da morbidade e mortalidade infantis, prejuízos econômicos na ordem de Cr\$ 7,2 bilhões para aquisição de leite industrializado e perdas anuais de aproximadamente 200 milhões de litros de leite humano (UNICEF, 1980).

O leite humano e, em especial o colostro, parece ser mais importante para a proteção e sobrevivência de certos grupos de recém-nascidos.

Incluem-se neste grupo os prematuros, os de baixo peso ao nascer, os propensos a infecções graves, recém-nascidos com enterocolite necrotizante, alérgicos ao leite de vaca e crianças imunologicamente deficientes.

Muitos problemas práticos interferem no uso do leite hu

mano para estas crianças.

Não é fácil obter-se leite em quantidade suficiente de mães que por alguma razão estão impossibilitadas de amamentar.

Um outro aspecto é a dificuldade encontrada pela mãe, no acesso às Unidades de Tratamento Intensivo, onde permanecem seus bebês.

Encontrar um suprimento de leite suficiente para tais bebês é um problema que, somente doações de outras mães internadas nas Unidades de Puerpério, não resolvem. As doações são irregulares e o volume que se obtém, muitas vezes, não corresponde às necessidades, em geral, dos prematuros.

Em hospitais infantis, onde estão internados os bebês seriamente doentes, com intolerância gastrointestinal ou submetidos a cirurgias, a dificuldade é considerável, devido a não presença constante das doadoras como sucede nas maternidades.

A implantação de Bancos de Leite Humano, nas maternidades, constitui um valioso recurso para a recuperação dessas crianças. A administração do colostro à criança é de fundamental importância, pois nele se encontra altas concentrações de componentes relacionados à defesa imunitária, destacando-se a Imunoglobulina Asecretória (IgA), responsável pela proteção contra infecções. Além disso, as maternidades podem dispor de maiores volumes de colostro, dado que as parturientes nelas permanecem até o terceiro ou quarto dia após o parto, período em que produzem a secreção.

Sendo a transferência passiva de imunidade reconhecida como a maior propriedade do leite e do colostro humano, é imprescindível garantir às crianças beneficiadas com o leite, ori

undo dos Bancos, um produto adequado às suas necessidades. No entanto, as técnicas de manutenção da qualidade do leite e do colostro humano nos Bancos de Leite são variáveis, sem um respaldo técnico-científico que permite classificá-las conforme a excelência, face aos recursos materiais e humanos que a instituição dispõe. Há pois urgente necessidade de se avaliar os padrões de qualidade dessas secreções após submetidas aos diferentes tratamentos tecnológicos que permitem aumentar a disponibilidade das mesmas para futuras aplicações às crianças neCESSItadas.

O presente trabalho foi realizado visando os seguintes objetivos:

- 1) Estudar a relação entre o volume de colostro coletado e as seguintes variáveis inerentes às doadoras: idade, número de partos, categoria social, tipo de parto, doenças durante a gravidez, complicações pós-parto, patologia de mama pós-parto, uso de drogas e período de lactação.
- 2) Avaliar segundo a categoria social da doadora, a qualidade microbiológica, as concentrações de proteínas totais e de imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) no colostro humano fresco.
- 3) Em comparação ao colostro humano fresco, determinar a qualidade microbiológica e quantificar os níveis de imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) e lisozima em amostras submetidas a métodos alternativos de coleta (local e técnica de esterilização dos dispositivos da bomba ordenhadeira), de processamento tecnológico (congelamento, pasteurização e liofilização) e de estocagem (tempo e temperatura).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Considerações Gerais sobre o Aleitamento ao Seio Materno:

Dentre as mais profundas modificações ocorridas nos padrões de alimentação infantil durante o século XX, destaca-se a substituição do leite humano pelo leite de vaca (Goldman & Smith, 1973).

Um inquérito feito nos Estados Unidos por Meyer em 1968 (citado por Martins Filho, 1976), revelou que 49 a 50% das crianças dos Estados de Utah a Oregon, saíam da maternidade já com mamadeira, enquanto que em Vermont e Rhode Island essa porcentagem subia para 86 a 98%. No Brasil, Martins Filho (1976), em um trabalho científico sobre a história da amamentação de 855 mulheres da cidade de Campinas, demonstrou que o tempo mediano da amamentação (50% das crianças desmamadas) foi de 2 meses e 24 dias.

O declínio gradual do aleitamento ao seio materno ocorreu paralelamente ao desenvolvimento tecnológico da indústria, que introduziu no mercado grande variedade de alimentos infantis (Jelliffe & Jelliffe, 1979), substitutos ou sucedâneos ao leite materno.

Em oposição a essa tendência, assiste-se há alguns anos um despertar renovado pela prática da amamentação ao seio, em virtude dos benefícios que apresenta à saúde de ambos, mãe e filho.

As vantagens do aleitamento natural materno sobre os alimentos infantis industrializados, são evidentes nos países do terceiro mundo, pelos riscos de infecção serem considerados mais altos (György, 1971), e onde os fatores econômicos são decisivos sobre a alimentação diária.

Por ser uma fonte relativamente barata de proteínas de alta qualidade biológica, o leite humano contribui para a prevenção da mal nutrição, aumentando conseqüentemente a resistência do indivíduo a infecções (Jelliffe & Jelliffe, 1975).

A baixa freqüência das infecções, em crianças amamentadas ao seio, tem sido reconhecida há décadas. Goldman (1973), discutindo trabalhos de vários autores sobre estudos epidemiológicos de morbidade e mortalidade infantil por infecções respiratórias e gastrointestinais, relatou a menor incidência nas crianças amamentadas ao seio.

Alguns inconvenientes de natureza prática poderiam ser atribuídos ao uso das fórmulas de alimentos infantis. A composição das fórmulas em sua maioria, se mostra aparentemente adequada ao crescimento da criança, desde que aplicadas de maneira correta. A tendência da mãe, em dar "um pouco mais", tem originado desvios da composição da "mamadeira", sobremaneira prejudicial à saúde da criança.

Assim sendo, poderá haver o perigo da contaminação do produto, através da água utilizada para sua reconstituição, ou

por mamadeiras e bicos mal higienizados (Brown, 1973).

Ressaltam-se entretanto os aspectos das conveniências da mãe durante a amamentação, na vida em sociedade moderna.

A afirmativa de que o "exercício da função beneficia o órgão" é lembrada por Jelliffe e Jelliffe (1979), que associam a prática do aleitamento ao decréscimo fisiológico do peso corporal materno, incluindo-se a gordura das mamas.

Por outro lado, é muito importante a estimulação do mamilo pela sucção da criança sobre a involução uterina e os ácinos glandulares da mama, concomitantemente (Worthington, 1980).

A lactação ininterrupta e bem orientada contribui segundo Newton & Newton, 1950 (citados por Applebaum, 1970) para um enchimento adequado das mamas, evitando o engurgitamento mamário e o aparecimento de mastites e fissuras nos mamilos.

A crença de que o aleitamento ao seio se relaciona com a diminuição da fertilidade tem sido provada por vários autores. Em muitas mulheres, a supressão da ovulação é atribuída à estimulação das mamilos e à consequente secreção da prolactina (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Em países em que as mulheres amamentam por muitos meses, ou mesmo anos, tais como o Japão, nota-se que a incidência de câncer mamário é mais baixa do que naqueles em que a lactação é abreviada. O aparente efeito da lactação, na redução do risco de câncer de mama, pode estar relacionado às modificações hormonais que o acompanham (Newton, 1971; citado por Martins Filho, 1976).

Quanto ao fator econômico Jelliffe & Jelliffe (1975), comentam: "A compra, de uma quantidade adequada de alimentos in

fantis industrializados, é uma dificuldade para a maioria das famílias, e geralmente requer 1/4 ou 1/3 do seus salários".

Pesquisas realizadas em Los Angeles, em 1974, revelaram que o custo das fórmulas de leite evaporado para a alimentação de um bebê de 3 meses, foi superior ao custo da alimentação suplementar necessária à mãe manter uma boa lactação (Jelliffe & Jelliffe, 1975).

Vale também mencionar as importantes relações psico-afetivas entre a mãe e a criança. Diferenças psicológicas entre bebês aleitados ou não ao seio, podem ser observadas em relação à experiência inicial, mitigação da fome interação mãe-criança, gratificação oral e sensação oral, atividade e aprendizagem, personalidade e ajustamento social (Newton, 1971, citado por Martins Filho, 1976).

2. Fatores que Interferem na Composição Qualitativa e Quantitativa do Leite Humano:

A literatura não raro, apresenta dados divergentes em referir-se aos valores quantitativos dos componentes nutricionais do leite humano.

Macy (1949), admite que a composição do leite humano pode ser influenciada pela raça, idade, número de partos, fatores hereditários, estado nutricional e condições de saúde da mulher.

No entanto, o Autor considera os procedimentos de coleta, manuseamento, preservação, análise das amostras, período

de secreção do colostro, leite de transição, leite tardio e ainda os métodos de cálculo e apresentação dos resultados (Tabela 1).

O colostro, secreção inicial das glândulas mamárias, é composto de produtos do leite elaborados pré e pós-parto, incluindo os constituintes celulares e fragmentos remanescentes do processo de preparação e expulsão do leite dos ductos e glândulas mamárias (Macy, 1949).

Há evidências indicando que o período colostrado se estende do primeiro ao quinto dia após o parto, embora existam variações de uma mulher para outra (Jelliffe & Jelliffe, 1979). O período de transição se prolonga até o décimo dia após o parto, seguindo-se então, a secreção do leite tardio (Macy, 1949).

O colostro é mais rico em proteínas totais e elementos minerais do que o leite de transição e o leite tardio (Heyndrickx, 1962; Macy, 1949).

As concentrações de lipídios e lactose aumentam gradativamente no leite de transição e no leite tardio, contudo os níveis de cloreto de sódio e zinco são maiores no período colostrado (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Variações diurnas individuais, nas taxas de gordura do leite, foram verificadas por Hytten em 1954 (citado por Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Os trabalhos de pesquisa têm demonstrado, com exceção das vitaminas e dos componentes da gordura, que a composição do leite humano parece ser independente do estado nutricional da mãe (Worthington, 1980).

Observações feitas em mulheres de vários países mostraram

TABELA 01

Composição percentual do leite humano de vários estágios (1)

Componentes	Tipo de Leite		
	Colostro (5 dias depois do parto)	Leite de transição (10 dias depois do parto)	Leite maduro (15 dias a 10 meses depois do parto)
Proteínas totais (g)	2,29	1,59	1,06
Caseína	-	0,51	0,37
Lactalbumina	-	0,78	0,36
Gorduras totais	2,95	3,52	4,54
Lactose	-	6,4	7,1
Sólidos totais	12,8	13,3	12,9
Cinzas totais (mg)	308	26,70	202,0
Peso específico	-	1,035	1,031
Minerais (mg)			
Ca	48,1	46,4	34,4
Mg	4,2	3,5	3,5
Na	50,1	29,4	17,2
K	74,5	63,6	51,2
Cátions totais (mEq)	6,8	5,5,	4,1
Nitrogênio não protéico (mg)			32,4
Uréia	-	-	18,0
Ácido úrico (N)	-	-	2,2
Creatinina (N)	-	-	1,1
Aminoácidos (N)	-	-	5,0
Aminoácidos mg)			
Arginina	74,4	62,8	43,3
Histidina	41,2	38,3	23,7
Isoleucina	101,1	97,0	61,0
Leucina	165,6	151,2	96,6
Lisina	117,7	112,6	70,1
Metionina	25,3	24,1	11,6
Fenilalanina	70,7	62,4	40,4
Treonina	84,8	78,1	51,8
Triptofano	32,2	28,2	19,2
Valina	116,9	104,9	72,5

(1) Macy, 1949, transcrito de Vilella et alli, 1976.

que a proteína contida no leite humano não é inferior em mães que consomem uma dieta baixa em proteínas ou pobre quanto a qualidade da mesma (Tabela 02).

Um estudo realizado no Paquistão, confirma a idéia sobre a qualidade e quantidade da proteína do leite coletado de mulheres de baixo padrão sócio-econômico em Karachi, que foram similares às das mulheres bem nutridas de outras partes do mundo (Lindblad & Rahimtoola, 1974, citado por Worthington, 1980).

A composição dos lipídios, no leite humano, varia de forma significativa com a dieta da mãe (Potter & Nestel, 1976, citado por Worthington, 1980). No ácido graxo padrão do leite humano, poderá haver profunda alteração pela modificação da energia armazenada e tipo de ácido graxo na dieta de lipídios.

Segundo Vis, 1976 (citado por Worthington, 1980), a reduzida ingestão de alimentos por parte da mãe, modifica a quantidade do leite, mas não a sua qualidade.

Com relação aos diversos teores de proteína do leite humano citados na bibliografia, Jelliffe & Jelliffe, (1979), argumentam: "As diferenças de valores encontradas na literatura podem ser atribuídas aos métodos utilizados para a determinação da proteína". Sobremaneira as proteínas totais do leite humano são determinadas pelo método de Kjeldahl, através da conversação do nitrogênio em proteína pelo fator 6,25 ou 6,38 (Heyndrichx, 1962), apesar do fato da maior parte do nitrogênio do leite humano (25%) ser de natureza não protéica (Lönnerdal et alii, 1977).

A influência, do número de partos e da idade materna sobre a quantidade de leite produzido, foi demonstrada por Norval em 1947 (citado por Martins Filho, 1976).

TABELA 02

Níveis de gordura, lactose, proteína e cálcio no leite tardio de mulheres bem e mal nutridas (1)

	GORDURA (g/ 100 ml)	LACTOSE (g/ 100 ml)	PROTEÍNA (g/ 100 ml)	CÁLCIO (g/ 100 ml)
<u>Bem nutridas</u>				
América (Macy 1949)	4.5	6.8	1.1	34.0
Inglaterra (Kon e Mawson 1960)	4.78	6.95	1.16	29.9
Austrália (Winikoff 1944)	-	-	-	28.6-30.7
América e Europa (Morrison 1952)	3.33 $\pm$ 0.57	7.2 $\pm$ 0.67	1.32 $\pm$ 0.32	-
Egito, Alexandria (mulheres sadias) (Hanafy et al 1972)	4.43	6.65	1.09	-
Brasil (classe alta) (Carneiro e Dutra 1973)	3.9	6.8	1.3	20.8
<u>Mal nutridas</u>				
Índia (Belayady e Gopalan 1959)	3.42	7.51	1.06	34.2
S. África, Bantu (Walker, Arvidsson e Draper 1952)	3.90	7.10	1.35	28.7
Egito, Alexandria (Hanafy et al 1972)	4.01	6.48	0.93	-
Nova Guiné (Becroft 1967)	2.3	6.48	0.93	-
Sri Lanka (De Silva 1964)	2.8	6.8	1.5	-
Brasil (classe baixa) (Carneiro e Dutra 1973)	4.2	6.5	1.3	25.7
Paquistão (Underwood et al 1970)	1.3-2.9	-	1.2	-
Tanzania (Crawford et al 1974)	frequentemente menor que 2.00	-	-	-
Nigéria, Ibadan (Naismith 1973)	4.05	7.67	1.22	-
Paquistão (Lindblad e Rahimtoola 1974)	2.73	6.20	0.8-0.9	28.4
Nova Guiné, Chimbu (Venkatachalam 1962)	2.36	7.34	1.01	-
New Hebrides (Peters 1953)	3.8	5.0	1.40	25.8
Alemanha (Após II Guerra Mundial) (Gunther e Stanier 1951)	3.59	-	1.20	-

(1) Transcrito de Jelliffe & Jellife, 1979.

CONTINUAÇÃO TABELA 02

	Gordura (g/ 100 ml)	Lactose (g/ 100 ml)	Proteína (g/ 100 ml)	Cálcio (g/ 100 ml)
Nauru (Bray 1928)	-	-	1.06	-
Nigéria, Ibadan (E. F. P. Jelliffe 1974)	-	-	1.1	-
Nova Guiné (Jensen et al 1960)	-	-	0.83-0.9	-

O Autor relata em sua pesquisa que encontrou nas mulheres multíparas com menos de 30 anos, maior facilidade na liberação do leite.

Newton e Newton, 1962 (citado por Applebaum, 1970) demonstraram que a ejeção ou "descida" do leite pode ser comprometida por fatores psicológicos, tais como, medo, ansiedade, fadiga e dor. Estes fatores podem produzir a inibição hipotalâmica da secreção da oxitocina, hormônio responsável pelo mecanismo de expulsão do leite (Applebaum, 1970).

Drogas como a clorpromazina (e outras fenotiazinas) aumentam a produção do leite, podendo bloquear a inibição hipotalâmica da oxitocina, sendo que as concentrações encontradas no leite materno parecem não afetar o bebê (Blacker 1962, citado por Applebaum, 1970).

Toda espécie de alimentação é recomendada à lactante, já que não existem evidências de que o tipo de comida ingerida pela mãe, possa influir na qualidade do leite (Applebaum, 1970). Comidas condimentadas, inclusive chocolate, alho e vegetais que contenham enxofre, não causam perturbações intestinais no bebê.

A maioria das drogas utilizadas terapeuticamente são eliminadas através do leite materno, sendo que algumas aparecem em quantidade prejudicial à criança (Jelliffe & Jelliffe, 1979, Taylor & Worthington, 1980).

Entre as drogas, citam-se os anticoagulantes, antibióticos com poder sensibilizante como as sulfamidas e tetraciclina, tiouracil, aspirinas, agentes antineoplásicos, substâncias radioativas como I^{131} e Na^{24} (Taylor & Worthington, 1980).

Grande atenção tem sido dada às concentrações dos poluon

tes lipofílicos no leite humano, como os pesticidas e herbicidas usados na agricultura, e os compostos bifenil policlorados e bifenil polibromados (PCBs e PBBs) na indústria (Jonsson et alii, 1977, Miller, 1977, citados por Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Foram identificados no leite de mulheres da Guatemala, níveis de 1,2 a 4,9 p.p.m. de DDT, devido ao uso indiscriminado do citado pesticida quando das campanhas para prevenção de surtos de malária (Olszyna - Marzys, 1975, citado por Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Em algumas circunstâncias, o leite humano previne a criança da ingestão de poluentes perigosos. Nas áreas, onde o solo é rico em nitrato, consequência dos fertilizantes químicos, a água de consumo utilizada para a reconstituição de fórmulas infantis, é um risco para o bebê, por ocasionar metahemoglobinemias. Dentro destas circunstâncias o leite humano é protetor, pois os nitratos são metabolizados pela mãe (Shuval & Gruener, 1972, citados por Jelliffe & Jelliffe, 1979).

A concentração de nicotina, no leite de mulheres que fumam, varia de 20 a 512 ppb (Ferguson et alii, 1976). Embora nenhum efeito nocivo tenha sido observado para os bebês, este estudo traz um argumento adicional em favor da supressão do cigarro, em vez de interromper a amamentação.

O álcool, os estupefacientes e os anticoncepcionais orais podem aparecer no leite, causando danos aos bebês e por esta razão devem ser evitados durante a lactação (Catz & Giacoia, 1973).

3. Composição Bioquímica do Leite e Colostro Humano:

O leite humano possui diferenças marcantes quando comparado ao leite de outros mamíferos, em função de sua composição bioquímica única, ainda não igualada pelas fórmulas mais modernas de leite humanizado, (Tabela 3). (Bezkorovainy, 1977; Gyorgy, 1971; Macy, 1949).

O leite de vaca no Ocidente é a base da alimentação infantil. Inicialmente surgiram modificações domésticas do leite fresco, seguindo-se um desenvolvimento de fórmulas industriais mais sofisticadas, em pó ou líquido, e ainda algumas com características especiais, tais como os hipoalergênicos, ou como fontes de complexos vitamínicos e minerais (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

3.1. Proteína.

O leite humano possui uma concentração protéica três vezes menor que o leite de vaca (György, 1971). A relação albumina/caseína é maior no leite humano, enquanto que a relação metionina/cistina é maior no leite de vaca, assim como o teor de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina), ou ramificados (leucina, valina, isoleucina) (Nordio et alii, 1979).

No tocante aos aminoácidos sulfurados, György (1971), faz importante comentário, chamando atenção ao fato do leite humano fornecer um teor maior de cistina: a enzima cistationase está ausente no fígado do feto humano e de prematuros. Em consequência, o feto e o prematuro são incapazes de utilizar a metionina e devem depender da cistina. O leite de vaca possui um excesso

TABELA 03

Composição do leite de vaca, leite humano e fórmulas por 100 ml
(1)

	Leite de Vaca	Leite Humano	Humani- zado SMA	SMA-S26	Parc. Huma- nizado SMA
Proteína %	3,3	1,2	1,5	1,5	1,8
Caseína %	2,8	0,4	0,6	0,5	0,7
Proteínas do Soro	0,6	0,6	0,9	0,9	1,1
% N não protéico U.I.	6	17	-	-	-
Gordura %	3,8	3,8	3,5	3,6	3
Iodo	38,4	61,6	-	-	-
Lactose	4,8	7	7	7,2	6,6
Calorias	69	71	-	-	62
Cinza %	-	-	0,38	0,25	-
Cálcio - mg	126	34	-	-	90
Cloro - mg	100	43	43	-	-
Magnésio - mg	13	4	4	-	-
Fósforo - mg	99	16	33	-	-
Potássio - mg	138	55	55	-	-
Sódio - mg	58	15	15	-	-
Enxofre - mg	30	14	-	-	-
Ferro - mg	0,1	0,2	0,5	0,5	0,13
Cobre - mg	-	-	-	0,03	-
Vitaminas	-	-	-	-	-
A - U.I.	125	180	530	260	180
Caroteno - U.I.	60	50	-	-	-
D - U.I.	-	-	40	40	44
E - mg	0,06	0,66	-	0,6	-
K - mcg	60	15	-	-	-
B ₁ - mg	0,04	0,015	0,07	0,07	0,05
B ₂ - mg	0,158	0,047	0,1	0,1	0,11
Ácido Nicotínico-mg	0,08	0,17	0,5	0,5	0,9
C - mg	2	4	5	5	-
Biotina - mcg	3,5	0,4	-	-	-
Colina - mg	13	9	-	-	-
Ácido Fólico - mcg	0,29	0,22	-	-	-
Inositol - mg	13	39	-	-	-
Ácido Pantotênico-mg	0,35	0,2	-	-	-
B ₆ - mcg	48	11	40	40	40
B ₁₂ - mcg	-	-	-	0,1	-

(1) Transcrito de Sonder, 1967.

de metionina (duas a cinco vezes mais do que de cistina), representando um problema a mais para o prematuro. As fórmulas adaptadas (leites denominados maternizados) aproximam-se do leite humano, no tocante à influência sobre o metabolismo dos aminoácidos, mas provocam uma sobrecarga de soluto nos rins (Nordio et alii, 1979).

Embora tanto o colostro bovino quanto o humano seja uma fonte rica de grande variedade de nucleotídeos, o leite de vaca tardio contém pouca quantidade de ácidos nucleicos, representada em sua maior parte pelo ácido orótico. Pode-se suspeitar que a síntese protéica no recém-nascido seja beneficiada pelo aumento de nucleotídeos na dieta (György, 1971).

Referindo-se ao teor de proteínas do soro encontradas nos dois tipos de leite, Jelliffe & Jelliffe (1979), cometam: "O leite humano é mais rico em lactoferrina, lisozima e Imunoglobulina A (IgA), não sendo encontrada a β lactoglobulina. O leite de vaca contém maiores teores de Imunoglobulina G (IgG) e β lactoglobulina. A α lactoalbumina, peça chave na síntese da lactose, está presente em maior quantidade no leite humano".

O período colostrar se caracteriza por níveis mais elevados de proteína (2,36 g/100 ml), os quais decrescem no leite tardio para 1,4 g/100 ml (Bezkorovainy, 1977; Heyndrickx, 1962; Macy, 1949).

Pesquisas realizadas durante 170 dias, com leite de mulheres suecas, demonstraram que o colostro apresentava maior concentração protéica, devido à presença de altas taxas de IgA secretória e lactoferrina neste estágio da lactação (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Outra importante diferença bioquímica encontrada nos dois

tipos de leite, está na relação da caseína e seus principais componentes: αs_1 , β e K. O leite humano contém 0,4% de caseína, com variações para a β caseína, pouca K caseína e quase nenhuma quantidade para a fração αs_1 , enquanto a caseína bovina é composta de 45% de caseína αs_1 (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

Outras substâncias, tais como as glicoproteínas, estão presentes em diferentes formas e proporções nos dois tipos de leite. O teor de poliaminas é maior no leite humano, em particular nos níveis de espermidina e espermina. A relação entre o metabolismo das poliaminas e o crescimento é bem conhecida, sendo que uma reduzida síntese da cistina, a partir de metionina é acompanhada de uma situação metabólica, a transformação da metionina em poliamina e síntese de ácidos nucleicos (Nordio et alii, 1979).

3.2. Gordura.

A absorção de gorduras durante a primeira semana de vida, é pequena. Uma semana após o nascimento, a absorção das gorduras provenientes do leite humano ultrapassa os 90%, enquanto para o leite de vaca é de somente 60% (Fomon, 1974; Widowson, 1965). Esta diferença é essencial devido a estrutura dos triglicerídios. Kayden et alii, 1967 (citado por György, 1971), demonstraram que os monoglicerídios são absorvidos com o ácido graxo na posição 2, depois da quebra dos triglicerídios até monoglicerídios.

No leite humano, o ácido palmítico está evidente na posição 2, enquanto que no leite de vaca e em muitos óleos vegetais, ele é mais freqüente na posição 1 ou 3 (György, 1971). O

menor teor dos ácidos esteárico e palmítico na posição 1 ou 3 na molécula do triglicerídiocorresponde, no caso do leite humano, a uma absorção mais acentuada de cálcio, pois formam-se menos produtos saponificados na luz intestinal (Widdowson, 1965).

Os níveis de ácidos graxos poliinsaturados se apresentam mais elevados no leite humano, sobretudo o ácido linolêico, cuja concentração é de sete a oito vezes maior que no leite de vaca. Em relação a este tópico, György (1971), alerta para o fato de que os denominados leites infantis modificados são adicionados de gordura vegetal, contendo uma quantidade de ácido linolêico superior ao leite humano. A ingestão de ácidos graxos poliinsaturados acima dos limites fisiológicos normais, quando há quantidades insuficientes de vitamina E ou outro antioxidante, conduz à formação de peróxidos, ocasionando hemólise dos eritrócitos e conseqüentemente anemia hemolítica (György & Rose 1949, citado por György, 1971).

A lipase do leite humano é considerada a principal fonte de energia para o recém-nascido, pois facilita a liberação dos ácidos graxos livres, (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

3.3. Carboidrato

A lactose é o principal carboidrato do leite humano, representando cerca de 40% do seu valor calórico total.(Kuhn 1959, citado por Nordio et alii, 1979).

Pequenas quantidades de glucose, galactose, glucosaminas/ e outros oligossacarídeos nitrogenados: N acetil glicosamina, ácido N acetil - neuramínico (ácido siálico), e o fator bífidus estão presentes (György, 1953).

A lactose do leite humano é digerida pela lactase das células da mucosa intestinal, que já são adultas nas crianças nascidas a termo e cuja atividade aumenta em acelerado, a partir do momento em que é iniciada a alimentação do prematuro. No entanto, certos dissacarídeos escapam a essa digestão, fermentam sob a ação da flora intestinal, produzindo-se ácidos orgânicos que reduzem o pH das fezes e, por serem menores o poder tampão e a taxa de fosfatos do leite humano, inibem o desenvolvimento do número de bactérias. (Weinberg & Gotherfors 1974, citado por Nordio et alii, 1979).

Jelliffe e Jelliffe (1979), na revisão sobre os aspectos bioquímicos do leite humano, citam as 4 funções mais importantes da lactose: "Aumenta a absorção do cálcio, desempenhando importante papel na prevenção do raquitismo. Sua alta solubilidade conserva a água do organismo materno. Sendo metabolizada a galactose no organismo e constituinte dos galactolipídios, como os cerebrosídeos, torna-se necessária para o desenvolvimento do sistema nervoso central. Associada ao fator bífidus, promove o crescimento do lactobacilo no intestino, aumentando a acidez das fezes dos bebês, que são alimentados com leite humano".

3.4. Vitaminas.

O leite humano é uma importante fonte de vitaminas para a criança. O recém-nascido, durante os primeiros meses de vida, não requer complemento vitamínico em sua dieta (Nordio et alii, 1979).

Os níveis vitamínicos, presentes no leite humano, são afetados pelo estado nutricional da mãe, em especial a vitamina A,

o ácido ascórbico, a riboflavina e a tiamina (Worthington, 1980).

Até então acreditava-se que a concentração de vitamina D no leite humano era bem baixa. Não raras vezes associava-se a baixa quantidade desta vitamina no leite ao raquitismo das crianças amamentadas (Worthington, 1980). Sahashi et alii em 1977 (citado por Leerbeck & S ndergaard, 1980), conseguiram isolar uma vitamina D solúvel em água no leite humano e bovino. Os níveis encontrados foram efetivamente altos, sendo que o leite de vaca apresentou 204 U.I./l da fração hidrossolúvel e 36 U.I./l da lipossolúvel. No leite humano a concentração encontrada para a fração hidrossolúvel foi de 950 U.I./l e 15,7 U.I./l da fração lipossolúvel.

No leite humano, são maiores os teores de vitamina A,  cido ascórbico e vitamina E, do que no leite de vaca (Kuratani, 1966) citado por Jelliffe & Jelliffe, 1979).

A estrutura da vitamina B₁₂ no leite bovino é diferente da encontrada no leite humano (Craft et alii, 1971, citado por Jelliffe & Jelliffe, 1979).

A vitamina K está presente em menor quantidade no leite humano, o que de certa forma explica as manifestações hemorrágicas que ocorrem no lactente entre o segundo e o sexto dia de vida (Dam, 1939, citado por Jelliffe & Jelliffe, 1979). Após a segunda semana de vida, a flora intestinal está mais desenvolvida e corrige a deficiência fisiológica de vitamina K (Gy rgy, 1971).

3.5. Minerais.

As taxas minerais no leite humano são contudo mais baixas do que às encontradas no leite de vaca (Macy, 1949).

A relação, entre os minerais do leite bovino e leite humano, varia para diferentes minerais, sendo surpreendente para o fósforo (5,9:1), cálcio (3,7:1) e sódio (3,6:1) (Jelliffe & Jelliffe, 1979). Segundo Aperia et alii (1972, 1974), as quantidades de sódio, cloro e potássio presentes no leite humano, são suficientes para manter a homeostase hidroeletrolítica do recém-nascido a termo e prematuro. Neste último, a eliminação renal de sódio é restrita, pois são menos capazes de reter este cátion.

Duncombe (1975), classificou de imperfeitas as fórmulas dos "leites modificados", fato este por possuírem elevados teores de sódio, conduzindo os recém-nascidos à hipernatremia, além de causarem convulsões e sérios danos renais e cerebrais. Em termos, estas fórmulas contêm uma baixa relação cálcio/fósforo, podendo ocasionar conseqüentemente hipocalcemia e tétano. A relação cálcio/fósforo no leite humano, permite uma utilização do cálcio ainda não verificada em nenhum outro tipo de leite.

A concentração de ferro no leite humano é insuficiente para o recém-nascido, em base não acarretando problemas, pois as reservas de ferro se estabilizam após o nascimento (Luckens, 1975). A absorção de ferro a partir do leite materno é superior a do ferro contido nas fórmulas. Também é considerada a relação existente entre o fornecimento de ferro, a lactoferrina e as infecções (Bullen et alii, 1972).

4. Fatores de Defesa Imunitária no Leite e Colostro Humano:

Considerados como diferença mais importante entre a fórmula do leite humano e a dos "leites modificados", os fatores de proteção espécie-específicos do leite e colostro humano são fundamentais ao recém-nascido durante o período em que o sistema imunitário é ainda pouco desenvolvido (Lawton & Shortridge, 1977).

O colostro e o leite humano conferem ao bebê resistência a uma ampla variedade de infecções agudas a crônicas, em especial, no trato gastro-intestinal (Chandra, 1978; Mata & Wyatt, 1971).

As propriedades anti-infectivas transmitidas ao bebê pelo leite humano, e sobretudo pelo colostro humano, são atribuídas não apenas à esterilidade do leite, mas também à presença de fatores antimicrobianos específicos e não específicos, atuando em vários níveis e locais (Chandra, 1978; Reddy et alii, 1977).

4.1. Imunoglobulinas.

Dentre os mecanismos que conferem resistência a infecções, cita-se como o mais importante a transferência específica de anticorpos, com especial referência à imunoglobulina A (IgA).

Encontram-se no leite e colostro humano, todas as classes de imunoglobulinas (Amman & Stiehm, 1966; Tomasi & Bienstock, 1968). O colostro possui maiores teores das imunoglobulinas IgA, IgG, IgM, IgD e IgE. Dessas, a IgA é a mais importante em termos de concentração relativa e características biológicas (Mata & Wyatt, 1971).

Schlossman & Moro em 1903 (citado por Mata & Wyatt, 1971), foram pioneiros na demonstração da relação existente entre as proteínas do soro e leite humano.

Segundo os Autores, os padrões das imunoglobulinas colostrais, se mostraram similares à maioria das imunoglobulinas das secreções externas, porém em seu todo, diferentes das identificadas no soro. IgG e IgM do colostro parecem possuir estrutura análoga as do soro (Hanson & Weinberg, 1972).

Estudos imunoelctroforéticos revelaram que o leite humano possui trinta componentes a mais do que o leite bovino. Destes, dezoito são proteínas similares às encontradas no soro, sendo os demais somente identificados no leite humano (Hanson, 1961, citado por Hanson et alii, 1979).

A principal forma de IgA, presente no colostro humano, é a IgA secretória, cuja estrutura, propriedades químicas e imunológicas são diferentes da IgA sérica (Bellanti, 1968).

Tomasi et alii, 1965 (citado por Bellanti, 1968), reconheceu em suas investigações as principais diferenças entre as duas imunoglobulinas A: a sérica possui um coeficiente de sedimentação (S_{20w}^0) de aproximadamente 6,9 S, enquanto a IgA exócrina tem um valor de 11,4 S a 11,6 S. A IgA exócrina tem maiores quantidades de hexose, hexosamina e fucose, e menores taxas de ácido siálico do que a IgA sérica.

Através de técnicas de autoradiografia e imunofluorescência, Tomasi et alii em 1965, citado por Mata & Wyatt, 1971) demonstraram que grande parte da molécula da IgA secretória no colostro, é sintetizada nas células linfóides. O outro componente da molécula, a chamada "peça secretória" (SP), ausente nas

proteínas do soro, é sintetizada nas células epiteliais que re cobrem o ducto glandular.

A IgA colostrar, sintetizada na glândula a partir de duas moléculas de IgA sérica, forma um dímero constituído de quatro cadeias pesadas, quatro cadeias leves e a cadeia J responsável pela característica antigênica da molécula. Forma-se uma estru tura de peso molecular de aproximadamente 390.000, composta de dois manômeros de IgA 6,5 S e de uma molécula de SP 4,5 S, com peso molecular de cerca de 76.000. A estrutura quaternária da molécula é estabilizada por ligações dissulfeto e não covalen tes (Newcomb et alii, 1968).

Os valores das concentrações das imunoglobulinas encontra das no colostro variam de autor para autor, sendo que há certa concordância em afirmar um decréscimo dos índices após a primei ra semana de lactação.

Amman & Stiehm (1966), verificaram que a concentração da IgA no colostro inicial, 17 mg/ml, decresceu para 1 mg/ml no co lostro do quarto dia de lactação. No mesmo trabalho os autores constatarem o contraste existente entre a alta concentração de IgA secretória e a baixa quantidade da IgA (0,4 mg/ml no colos tro inicial e 0,04 mg/ml no quarto dia), e IgM (1,6 mg/ml e 0,1 mg/ml) no colostro inicial e do quarto dia, respectivamente.

Lechtig et alii (1970), quantificaram pela técnica de imu nodifusão radial, as imunoglobulinas do colostro e leite das índias maias da Guatemala. Os autores encontraram para IgA con concentrações médias de 4,1 mg/ml, durante o período do segundo ao quarto dia após o parto. As taxas de IgA decresceram após duas semanas do parto para 1,8 mg/ml, permanecendo relativamente cons

tantes durante o restante do período de lactação. No entanto, quantidades relativamente pequenas de IgG (0,063 mg/ml) e IgM (0,095 mg/ml), foram encontradas no colostro do segundo ao quarto dia.

Ogra e Ogra (1978), utilizando a mesma técnica citada acima, identificaram no colostro e leite os seguintes níveis médios de imunoglobulinas, expressos em mg por g de proteína total: 158 mg de IgA no colostro do primeiro dia após o parto, 113 mg no segundo dia e 20 a 37 mg após cento e oitenta dias da decorrência do parto. Valores para IgG no colostro e leite tardio foram de 4,9 a 1,4 mg e para IgM, 29 mg a 3,5 mg.

Hanson et alii (1979), compararam os títulos de IgA, IgG e IgM no soro e leite humano, mostrando que a relação anticorpos do leite/anticorpos do soro é muito elevada para a IgA (média de 16 mães = 10,5). As relações correspondentes às IgG (média de 16 mães = 0,3) e às IgM (média de 16 mães = 0,0), foram bem menores. A relação um pouco mais elevada para as IgM do que as IgG indicou aos Autores a existência de um mecanismo parcialmente diferente para a síntese desses anticorpos, por exemplo, produção local de IgM, como observado em outros órgãos.

Hanson e Johanson citam em seu trabalho de 1970, níveis de 20 a 50 mg/ml de IgA durante o período colostrar, e de 1 mg/ml de IgA no período subsequente. Para a IgG do colostro, a concentração encontrada foi de 0,01 a 0,05 mg/ml. A IgM seguiu a mesma tendência, cuja concentração no leite foi inferior a 0,01 mg/ml.

As taxas de imunoglobulinas, lactoferrina e lisozima em amostras de leite de mulheres indianas bem e mal nutridas, fo

ram determinadas por Reddy et alii (1977), em diferentes períodos de lactação. A concentração de IgA mostrou-se elevada no colostro, com índices médios de 350 mg/100 ml, decrescendo rapidamente após este estágio para 110 mg/100 ml. As concentrações de IgG e IgM foram de certa forma maiores no colostro, havendo o esperado decréscimo no leite de transição e leite tardio. Os resultados também indicaram aos autores que os níveis de imunoglobulinas não foram influenciados pelo estado nutricional da mãe.

De maneira igual Wyatt et alii (1972), avaliaram os níveis de imunoglobulinas e anticorpos no leite de mulheres expostas a altos riscos de infecção e mal nutrição. Para a IgA colostrais foram encontrados níveis elevados (333 mg/100 ml), ocorrendo o decréscimo para 242 mg/100 ml no leite tardio. IgM foi detectada no colostro (36 mg/100 ml), porém não após as quatro semanas de lactação.

Outros valores encontrados para IgA colostrais: 693 mg/100 ml (Ansaldi et alii, 1968); 750 mg/100 ml (Bazzi et alii 1970); 260 mg/100 ml; (Michael et alii, 1971).

Os pesquisadores de um modo geral associam o declínio da concentração de imunoglobulinas no leite tardio ao aumento do volume do leite, após a primeira semana de lactação, refletindo um fenômeno de diluição (Ammam & Stiehm, 1966; Reddy et alii, 1977).

A absorção intestinal das imunoglobulinas colostrais por recém-nascidos foi comprovada por trabalhos de Iyengar & Selvaraj (1972).

Michael et alii (1971) encontraram nas fezes dos bebês

aleitados ao seio, altos títulos de anticorpos anti-*E. coli*.

Na mesma linha seguem as pesquisas de Dolby et alii (1976) & Martins Filho et alii (1980). Os Autores constataram in vitro, o efeito bacteriostático do leite humano sobre algumas linhagens de *E. coli*, e detectaram no colostro a presença de anticorpos anti-enterotoxina e anti-fator de colonização.

Foi sugerido, que a absorção das imunoglobulinas colostrais pelo trato intestinal dos recém-nascidos, tem grande importância fisiológica, pois aumenta a resistência a infecções entericas causadas por *E. coli* (Iyengar & Selvaraj, 1972).

A atividade antitóxica do colostro humano foi relacionada com a elevada concentração de IgA secretória (Stoliaret alii 1976).

Além dos anticorpos anti-*E. coli*, Goldman & Smith (1973), citam em revisão bibliográfica sobre o assunto, a presença no leite humano, de anticorpos na fração IgA para: *Bacillus tetanus*, *Hemophilus pertussis*, *D. pneumoniae*; *Corynebacterium diphtheriae*, *Salmonella*, *Shigella*, poliovirose 1, 2 e 3, *Coxsackie B1*, *B5* e *B9*, *Echo* viroses 6 e 9, vírus *Influenza*. Para a fração IgG, a atividade específica de anticorpos foi determinada para *Rickettsiae*, *Protozoa*, antígeno H de *Salmonella*, toxinas bacterianas, anticorpos RH incompletos (Mata & Wyatt, 1971). A fração IgM contém aglutininas RH, sífilis reaginas, crioaglutininas e anticorpos ao antígeno O das enterobactérias (Mata & Wyatt, 1971).

Duas hipóteses sugerem o aumento da sobrevivência dos anticorpos colostrais no trato alimentar do recém-nascido; 1) os anticorpos do leite humano são mais resistentes à digestão ácida pela pepsina, do que os do soro e a IgA colostrais é resistente

à digestão triptica. (Shim et alii, 1969 citado por Goldman & Smith, 1973); 2) um inibidor de tripsina foi identificado no colostro humano (Laskowski & Laskowski, 1951).

4.2. Fator de Crescimento do *Lactobacillus bifidus*.

O fator bífidus foi descrito como um polissacáride nitrogenado presente em altas concentrações no colostro. Sua concentração no leite humano corresponde a 0,7% dos sólidos totais, o quádruplo da concentração encontrada no leite bovino (György 1971). O fator bífidus do leite e colostro humano, combinado ao baixo pH do intestino, facilita o crescimento do *Lactobacillus bifidus*, que ao produzir os ácidos acético e lático torna baixo o pH das fezes dos bebês aleitados ao seio (Norton & Shohl 1926, citados por Goldman & Smith, 1973). Tal fato não ocorre com os bebês amamentados artificialmente, pois além de desenvolverem uma flora intestinal mista, o pH de suas fezes é maior do que as dos outros bebês (Tissier 1900, citado por Goldman & Smith, 1973).

Com relação aos efeitos benéficos do fator bífidus, foi demonstrado "in vitro" que inibe o crescimento de bactérias enteropatógenicas (Goldman & Smith, 1973).

A maior resistência contra infecções gastrointestinais, conferida pelo leite humano, pode ser devida também a sua baixa capacidade tamponante associada à produção de ácidos voláteis (acético e butírico) pelo *Lactobacillus bifidus*, conferindo alta acidez às fezes (György et alii, 1962).

4.3. Fator Antiestafilocócico.

Segundo György (1971), o fator antiestafilocócico identificado no leite humano, parece ser um ácido graxo (18:2) termoestável e de estrutura distinta do ácido linolêico.

Com base nos experimentos realizados na era pré-antibiótica, onde os pediatras indicavam o uso do leite humano para terapia das infecções estafilocócicas, György et alii (1962) verificaram "in vitro" as propriedades do fator antiestafilocócico. Os Autores demonstraram em pesquisa com ratos, que os animais pré-tratados parenteralmente com leite humano, sobreviviam às infecções causadas por estafilococo virulento, enquanto os não tratados ou os tratados com leite de vaca não eram tão bem protegidos.

4.4. Componentes do Sistema Complemento.

Apesar das imunoglobulinas IgG e IgM, ativadoras do complemento pela fixação ao primeiro componente do sistema complemento, estarem presentes em baixa concentração no leite humano, verificou-se a presença dos componentes C₄ e C₃. O colostro contém altas concentrações do componente C₃ do sistema complemento cujos níveis se aproximam aos do soro humano. No leite tardio, a concentração de C₃ é de 5 a 10% da encontrada no soro (Chandra, 1978).

Apesar de não estar bem estabelecida a atividade de C₃ na imunidade gastrointestinal do recém-nascido, já foi demonstrado ser este componente portador de propriedades opsonicas, anafiláticas e quimiotáticas (Goldman & Smith, 1973).

4.5. Lisozima.

Dos fluídos extra celulares, o leite humano é conhecido por conter a maior concentração de lisozima (Salton, 1957). Foi identificado no leite humano níveis médios de 39 mg/100 ml, isto é, cerca de 300 vezes a mais do que no leite bovino. (Chandan et alii, 1964). A enzima, segundo Salton (1956) é responsável pela lise dos peptídios da parede celular bacteriana. Foi encontrada em vasta quantidade nas fezes dos bebês aleitados ao seio, o que evidenciou a hipótese de que esta enzima possa contribuir para manutenção e desenvolvimento da flora intestinal especial destes bebês (Rosenthal & Lieberman, 1931, citados por Jollès & Jollès, 1961).

A lisozima do leite humano foi descrita como termoestável a 100°C, permanecendo ativa em pH ácido (Jollès & Jollès, 1961). Foi também relatado que a lisozima e o complemento associado à IgA secretória, realizam lise de *E. coli* WF 96 e WF 61 (Adinolfi et alii, 1966, citado por Goldman & Smith, 1973). Desempenha importante papel na proteção contra várias viroses, incluindo-se neste caso o vírus *Herpes hominis* (Jelliffe & Jelliffe, 1979).

4.6. Lactoperoxidase.

A enzima lactoperoxidase, associada aos íons tiocianato e ao peróxido de hidrogênio, formam "in vitro" o sistema antibacteriano do leite humano (Oram & Reiter, 1966). A ação da lactoperoxidase no leite humano está relacionada com a destruição de *Streptococcus* (Jago & Morrisson 1962, citado por Goldman & Smith, 1973).

4.7. Lactoferrina.

O leite humano contém altas concentrações de lactoferri-na (2 mg/ml) poderoso agente bacteriostático, de grande efeti-vidade contra *Candida albicans* (Bullen et alii, 1976, citado por Jelliffe & Jelliffe 1979). In vitro, sua ação é aumentada pela presença de anticorpos específicos e inibida por adição de ferro. Por essa razão, a suplementação oral com ferro para bebês aleitados ao peito é contra-indicado, porque pode inter-ferir no mecanismo de defesa conferido pela lactoferrina (Bul-len et alii, 1972).

Linhagens de *E. coli* e de *Staphylococcus* são destruídas pe-la lactoferrina e a IgA secretória (Bullen et alii, 1972; Ste-phens et alii, 1980). Os Autores justificam o mecanismo da ini-bição, ao fato da lactoferrina se encontrar insaturada no lei-te humano, ligando-se ao ferro e tornando-o não disponível ao metabolismo das bactérias.

4.8. Leucócitos.

O leite humano contém altas taxas de leucócitos, incluín-do os linfócitos (10% dos leucócitos) e macrófagos (90% dos leu-cócitos). O número médio de macrófagos e linfócitos no colos-tro do período imediato após o parto é de cerca de $2.100/\text{mm}^3$ e $205/\text{mm}^3$, respectivamente (Goldman & Smith, 1973). Os macrófa-gos, conceituados como fagócitos complexos, contêm vários li-sossomas, pinossomas, mitocôndrias, ribossomas, e um aparelho de Golgi bem desenvolvido. Estas células são responsáveis pela síntese de C_3 , interferon, C_4 , lisozima e lactoferrina (Goldman & Smith,

1973). Além de mediar a proteção contra enterocolite necrotizante, inibe o crescimento de bactérias e fungos (Pitt et alii, 1977, citado por Chandra, 1978).

Os linfócitos colostrais são do tipo T e B, podendo sintetizar imunoglobulina A secretória e anticorpos (Goldman & Smith, 1973).

5. Importância da Utilização do Colostro na Alimentação dos Bebês Prematuros e de Baixo Peso:

Os recém-nascidos prematuros, de baixo peso ou doentes, de certa maneira são privados do aleitamento natural, por falta de interesse do médico e inexperiência tanto da mãe quanto da enfermeira, no tocante à expressão manual do leite (Rueda, 1979).

Nas Unidades de Internação dos recém-nascidos de baixo peso, freqüentemente se observam epidemias de diarréia aguda produzida por E. coli enteropatogênica. Estas se mantêm em forma endêmica, apesar do emprego dos métodos rigorosos de higiene (Tasovatz & Kotsich, 1961, citado por Martins Filho, 1976).

A utilização do leite e colostro humano revelou-se como o único meio eficaz de dominar as epidemias infecciosas nas salas de prematuros ou de recém-nascidos doentes (Bullen et alii, 1972, Ross e Dawes, 1954, Svirsky-Gross, 1958).

Fernandez et alii (1979), demonstraram que o leite humano tem papel relevante no estabelecimento da colonização intestinal do recém-nascido prematuro. Os Autores verificaram que

os prematuros alimentados com leite humano, não obtiveram diarréia, ao contrário de alguns do grupo controle, alimentados com fórmulas em pó, os quais apresentaram diarréia grave por *E. coli* enteropatógênica.

Potter em 1944 (citado por Macy, 1949), relatou enorme decréscimo na mortalidade de prematuros em Chicago, desde que o Departamento de Saúde programou a utilização rotineira do leite humano na alimentação destes bebês.

O recém-nascido prematuro ou de baixo peso possui maiores exigências de proteínas e de cálcio, em relação à criança nascida a termo, devido a maior aceleração do crescimento. Este incoveniente entretanto, não ocorre quando o "pré-termo" recebe o colostro humano, que apresenta teores mais elevados de proteína e cálcio (Nordio et alii, 1979).

Como já citado anteriormente, o colostro é muito rico em imunoglobulinas. A IgA secretória presente no colostro limita a ingestão de antígenos dietéticos, reduzindo os riscos de reações alérgicas mediadas imunologicamente (McClelland & McDonald, 1976).

A IgA é sobretudo importante no período imediato após o nascimento, pois sua produção no recém-nascido é deficiente para lhe conferir imunidade (Porter, 1977). Neste sentido, McClelland & McDonald (1976) atentam para o fato de que o uso das fórmulas "modificadas" durante o período neonatal precoce, não apenas privam o recém-nascido de IgA, como também o expõem ao risco de apresentar reações alérgicas.

Iyengar & Selvaraj (1972), observaram nos lactentes que não receberam o colostro, uma acentuada queda na taxa de IgG sé

rica, em relação às taxas presentes ao nascimento e cinco dias após este evento. As concentrações de IgA e IgM apresentavam variações marginais. Em compensação, nas crianças que recebem o colostro, a concentração de IgG acusava sensível aumento. No quinto dia, as taxas séricas das três imunoglobulinas eram nitidamente mais elevadas nas crianças que haviam recebido o colostro.

Parece que as proteínas são bem utilizadas durante o período neonatal, mas admite-se que o colostro é capaz de ativar as depeptidases intestinais durante este período (Lindberg & Karlsson, 1970, citados por Martins Filho, 1976). Os Autores julgam que as imunoglobulinas presentes no colostro, sejam em certa medida absorvidas ao nível do trato intestinal do recém-nascido e que tal fenômeno poderia ter significado fisiológico no tocante a resistência às infecções, no período neonatal precoce.

Outra consideração importante que releva ainda mais o uso do colostro na dieta do prematuro, é o fato de conter uma concentração mais baixa de lactose (5,7 g/100 ml) do que o leite de transição e o leite tardio (Whorthington, 1980).

É preciso considerar os aspectos negativos que pode apresentar uma alimentação muito rica em lactose. Uma taxa de lactose da ordem de 7 a 8 g/100 ml de leite parece provocar acidose metabólica nos lactentes mais novos, em especial nos prematuros (Fosbrooke & Wharton, 1975).

Além disso, o colostro possui uma taxa de gordura menor do que a encontrada no leite de transição e leite tardio (Macy, 1949), o que poderia beneficiar o neonato, pois a absorção das

gorduras, ao nível intestinal, durante a primeira semana da vida é pequena. (Nordio et alii, 1979).

6. Bancos de Leite Humano:

6.1. Histórico.

O crescente interesse pela utilização do leite humano para a alimentação de crianças prematuras, foi observado desde o começo do século nos Estados Unidos, nos países escandinavos, em outras partes da Europa (Human milk..., 1976). No entanto, a literatura cita as dificuldades que sempre ocorrem nas Unidades de Cuidados Especiais de prematuros ou de outros bebês doentes, quanto ao suprimento regular de leite. A alternativa encontrada por muitas maternidades foi a de utilizar o leite estocado em Bancos de Leite Humano (Davy, 1975, Goldman, 1977).

Emerson (1922), cita em seu trabalho algumas pesquisas realizadas desde o começo do século, com o intuito de demonstrar que já naquela época havia interesse em usar métodos mais adequados para a preservação do leite humano.

O peróxido de hidrogênio foi utilizado para preservar o leite humano por Mayerhofer & Pribaim em 1909 e por Knapé em 1911. Segundo Emerson (1922), os Autores verificaram que as amostras estocadas a frio por tempo prolongado, tornavam-se aos poucos mais ácidas, aumentavam a contagem bacteriana e apresentavam odores estranhos. O leite estocado até o trigésimo segundo dia foi administrado a bebês, os quais tiveram satisfatório ganho de peso. Mayerhofer & Pribaim em 1901, também preserva

ram o leite com peróxido de cálcio, evaporando-o em seguida com ou sem o conteúdo lipídico. Emerson (1922), criticou o sistema utilizado para a secagem do leite, pois o método era vagaroso demais para a quantidade que necessitavam. O autor citou dois outros métodos utilizados naquele tempo para a preservação do leite humano. O primeiro consistia na evaporação do leite e adição de açúcar como preservativo, tornando-o então um leite humano condensado. O outro método, consistia na associação de 12% de gordura de leite humano, ao leite de vaca desnatado adicionado de água.

Emerson (1922), também comentou sobre a organização de um sistema de coleta domiciliar do leite, realizado pelo persoal de um hospital de Boston em 1915. O sistema consistia de um histórico médico-social da doadora, seguido de instruções sobre os cuidados com os seios e métodos higiênicos de coleta. As amostras eram armazenadas em recipientes estéreis, sendo transportadas até o hospital, onde eram pasteurizadas e estocadas no refrigerador. Durante oitenta dias foram coletados 358,7 litros de leite humano.

Os Bancos de Leite Humano foram implantados na Inglaterra e nos Estados Unidos, antes da II Guerra Mundial, sendo que os padrões adotados para a coleta foram publicados em 1943 pelo Committee on Mother's Milk of American Academy of Pediatrics.

Em 1973, foi organizado um Banco de Leite num hospital de Chicago, o qual serviu de exemplo para a implantação de outros na Inglaterra. Neste hospital, grande quantidade de leite era disponível, havendo cooperação entre os outros hospitais, sendo o transporte realizado por trem, carro e mui raro por

avião (Davy, 1975). Após a guerra, sucedeu-se um período de desinteresse pelo uso do leite humano na alimentação de recém-nascidos doentes, devido ao abandono da prática do aleitamento natural materno. Apesar deste fato, Davy (1975) e Duncombe (1975), notificaram a implantação de novos Bancos de Leite na Inglaterra, a partir de 1945: em Cardiff 1948, em Birmingham & Bristol 1950, mais tarde em Liverpool, Leicester & Brighton. Estes bancos foram organizados, sendo que os dados médicos-sociais das doadoras eram computados com esmero. O leite era coletado nas casas das voluntárias, armazenado em recipientes de atmosfera inerte e estocado no refrigerador doméstico. As mães eram instruídas pelo pessoal dos hospitais sobre as técnicas de higiene das mãos e seios. As técnicas adotadas para a coleta e distribuição do leite eram padronizadas individualmente por cada banco. Alguns procediam a coleta através de bombas manuais, outros por bombas mecânicas (Duncombe, 1975).

Conduzidas às maternidades, as amostras eram submetidas a testes de controle de qualidade de aparência e odor. A seguir, passavam por testes laboratoriais e conforme o resultado eram misturadas, acondicionadas em garrafas, pasteurizadas a 65°C e resfriadas rapidamente. A estocagem era feita a 0°C, por um período de até seis meses. O descongelamento era realizado de maneira lenta, durante 48 horas (Davy, 1975).

Alguns Bancos de leite aqueciam as amostras a 100°C, resfriando-as logo a 30°C. Estes bancos estocavam as amostras, congeladas por um período máximo de sete dias, analisando-as sempre quanto ao conteúdo de gordura e contagem bacteriana (Duncombe, 1975).

Relativo ao pagamento pela doação do leite Davy (1975), relatou que alguns destes bancos utilizavam pequenas quantias em dinheiro para compensar o trabalho e a inconveniência por que passavam as doadoras, apesar de algumas não exigirem nada em troca.

Bancos de Leite mais sofisticados foram implantados no King's College Hospital em 1976 (Williamson et alii, 1978), em Oxford (Lucas & Roberts, 1979), e em Santiago do Chile (Torres-Goitia, 1979). Segundo os autores estes bancos de leite foram criados para suprir as necessidades dos bebês internados na Unidade de Cuidado Intensivo.

Além de minuciosa coleta e recrutamento das doadoras, os bancos realizam análises nutricionais, bacteriológicas das amostras (Williamson et alii, 1978) e das mãos das doadoras e pessoal técnico do banco (Torres-Goitia, 1979).

No Brasil, já existem Bancos de Leite Humano em Brasília, Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso e Alagoas, conforme informações obtidas da Divisão de Saúde Materno-Infantil (DINSAMI), do Ministério da Saúde.

Em 1979, a DINSAMI, através do ofício circular nº 35/79 de 02/08/79, enviou às Secretarias de Estado da Saúde, material informativo sobre a montagem e operacionalização de Bancos de Leite Humano (Apêndice 1). Segundo o comunicado, o leite provindo dos Bancos será destinado a recém-nascidos prematuros e de baixo peso, sendo reconhecido que há necessidade de maiores estudos para a elaboração de normas sobre o assunto.

6.2. Extração e Coleta do Leite:

A extração do leite é o método recomendado para ajudar as mães cuja tensão do leite tenha atingido um grau elevado e doloroso demais para a massagem e expressão manual (Applebaum, 1970). Entretanto há crianças que não estão em condições de sugar, por estarem sonolentas devido à anestesia recebida pela mãe durante o parto, ou então encontram-se em incubadoras, como no caso de prematuros, bebês de baixo peso com anomalias cardíacas (Taylor & Worthington, 1980). Nestes casos, Applebaum, (1970) aconselha que todas as maternidades possuam uma bomba elétrica de extração do leite, pois as bombas manuais são inúteis e provocam o aumento da dor, lesando o sensível tecido congestionado do seio e do mamilo.

Segundo Applebaum, (1970) "a sucção deficiente resulta em produção e liberação insuficiente de leite, pois estão em função da estimulação do mamilo. Uma mãe saudável pode produzir mais leite do que as necessidades calóricas do bebê. Quando não se esvazia o seio completamente, os resíduos do leite acumulam-se nos sistemas de canais. Os tecidos dos seios ficam engurgitados, observa-se estase venosa e linfática, e aumenta a pressão dentro dos canais. Infelizmente, quando a pressão intramamária aumenta observa-se involução nociva, atrofia da pressão das células glandulares secretoras e das células mioepiteliais. Como consequência há diminuição da produção do leite e enfraquecimento do reflexo de liberação. Daí surgem a congestão do mamilo, vermelhidão, inchaço, inflamação e infecção ou mastite".

Portanto, é importante generalizar a prática de extração

manual ou mecânica do leite, se a mãe é separada de seu bebê por razões imperiosas, ou de utilizar o excedente de outras mães para alimentar a criança doente (Rueda, 1979).

6.3. Controle de Qualidade Bacteriológica em Bancos de Leite Humano.

A qualidade bacteriológica do leite estocado em Bancos tem sido a preocupação dos Encarregados do Setor Saúde, já que seus consumidores são crianças de alto risco que exibem menor resistência às infecções (Liebhaber et alii, 1978, Lucas & Roberts, 1979).

Alguns estudos têm demonstrado que a microflora existente no leite humano pode ser proveniente da pele, apesar de incluir também os *Streptococcus* orais derivados da criança. A contagem bacteriana poderá ser relativamente aumentada, se o leite remanescente nos ductos dos mamilos for colonizado na mamada subsequente (Williamson et alii, 1978).

Gomes et alii (1972), através das análises mamiloscópica e histopatológica de lesões mamilares e cultura do colostro de gestantes e puérperas, concluíram que o *Staphylococcus* patogênico (plasmocoagulase positivo), estava presente em elevada percentagem de casos. Dessa maneira, os Autores chamaram à atenção para uma progressiva contaminação dos berçários veiculada por recém-nascidos que mamavam as culturas de *Streptococcus*.

Foram encontrados nas amostras de leite de nutrizes, os mesmos microorganismos presentes em seus mamilos e mãos, o que

sugeriu a hipótese de que a contaminação representava a flora normal da pele materna (Hack et alii, 1975, Torres-Goitia et alii, 1979). Apesar das nutrízes terem sido instruídas sobre as normas de higiene dos seios e mãos, utilizando bombas este realizadas para a coleta, todas as amostras nos dois trabalhos continham *Staphylococcus albus*. Outros microorganismos como *Staphylococcus aureus* patogênico, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus* hemolítico, bacilos gram negativos não fermentativos, difteróides e *Sarcinas* foram identificados em menor percentagem de amostras (Hack et alii, 1975).

A contagem total de colônias no trabalho de Hack et alii (1975) variou de 10^2 a 10^6 /ml, e na pesquisa de Torres-Goitia et alii (1979) de 0,2 a $0,4 \cdot 10^6$ /ml. Segundo os autores não foi verificada proliferação de microorganismos nas amostras estocadas no refrigerador comum até 72 horas.

Os resultados das pesquisas de Williamson et alii (1978), indicaram que coletas realizadas sob rigorosa assepsia resultavam em amostras com contagem bacteriana média de $10 \cdot 10^3$ colônias/ml, apesar de apresentarem *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus* e difteróides. Quando as normas de higiene não eram bem obedecidas, as amostras resultavam em alta contagem bacteriana com a presença de enterobactérias, *Acinetobacter*, *Alkaligenes* e *Moraxella*.

Considerações sobre a estocagem do leite foram feitas por Lucas et alii (1979) & Williamson et alii (1978), no sentido de advertir as doadoras sobre a possibilidade de um aumento na contagem bacteriana, quando as amostras eram estocadas em seus refrigeradores. Os Autores recomendam que o leite ordenhado seja estocado, no congelador, sobretudo na época do verão.

Wyatt & Mata (1969), encontraram no colostro e leite de índias maias da Guatemala, contagem bacteriana de 3.10^4 colônias/ml, sendo identificada também *E. coli*. A presença das enterobactérias no leite destas mulheres, foi atribuída ao baixo nível de higiene pessoal e condições sanitárias da população estudada.

Lucas & Roberts (1979), evidenciaram a importância de se utilizar métodos adequados de desinfecção dos recipientes receptores e armazenadores do leite ordenhado. Os Autores revelaram que as amostras armazenadas em recipientes antes lavados com detergentes comum, resultavam em contagens bacterianas significativamente maiores do que as armazenadas em recipientes desinfetados com solução de hipoclorito.

Liebhaver et alii (1978), lembraram que os cuidados higiênicos com as bombas coletoras de leite devem ser observados tanto quanto com as mãos, mamilos e recipientes. Eles demonstraram que o leite ordenhado por bomba manual apresentava contagens bacterianas maiores do que o leite retirado por expressão manual, não havendo maneira adequada de esterilização das bombas. Mais de um milhão de colônias/ml foram encontradas na secção de borracha dessas bombas.

Fato interessante de ser citado é a experiência realizada por Torres-Goitia et alii (1979). Os Autores constataram que o leite de uma determinada mulher teve propriedades bacteriostáticas e bactericidas suficientes para proteger da contaminação de sua própria flora microbiana, porém nem sempre foi capaz de atuar contra as bactérias contaminantes alheias a ela. Por exemplo, da ajudante manipuladora.

Apesar das propriedades bactericidas e bacteriostáticas do leite humano, uma contaminação excessiva é indesejável, pois entre os microorganismos geralmente encontrados estão as bactérias produtoras de lipases, proteases ou descarboxilases (Dahlberg & Kosikowsky, 1948, Law et alii, 1976, Voigt & Eitenmiller, 1977, citados por Lucas & Roberts, 1979). Tais enzimas, em teoria, produzem efeitos não desejados, sugeridos na Tabela 04 (Lucas & Roberts, 1979).

TABELA 04 - Produtos bacterianos e suas conseqüências indesejáveis para o leite humano estocado em bancos.

Microorganismos	Produto	Efeito hipotético
Bacilos gram negativos não fecais (especialmente <i>Pseudomonas</i>), <i>S. aureus</i>	Lipases	Liberação de ácidos graxos ocasionando icterícia neonatal.
<i>Bacillus</i> spp Bacilos gram negativos não fermentativos	Proteases	Possível destruição de fatores de proteção, tais como imunoglobulinas.
<i>Streptococcus faecalis</i> <i>E. coli</i>	Descarboxilases	Conversão de aminoácidos livres para aminas (tiramina, e triptamina), possivelmente, tóxicas a recém-nascidos.

Williamson et alii (1978), verificaram que se forem descartados os primeiros 5 a 10 ml de leite durante a ordenha, poderá haver melhoria na qualidade microbiológica, com decréscimo

cimos na ordem de 10 a 100 vezes da contagem bacteriana.

O tratamento térmico tem sido o método utilizado pelos Bancos de Leite para reduzir o conteúdo de bactérias viáveis, apesar de ser reconhecido que poderá haver destruição de certos constituintes nutricionais (Ford et alii, 1977).

Alguns Bancos de Leite adotaram critérios empíricos para assegurar um produto de boa qualidade microbiológica.

McEnery & Chattopadhyay (1978), estabeleceram limites de segurança para contaminantes microbianos do leite humano ordenado. Foi estipulado que o leite poderia ser utilizado sem nenhum tratamento, quando a contagem bacteriana não excedesse a $2,5 \cdot 10^6/1$, e quando não fossem detectados microorganismos patogênicos. Se a contagem bacteriana fosse superior a $2,5 \cdot 10^6/1$ e inferior a $10^9/1$, as amostras eram submetidas ao aquecimento ($63 - 65^\circ\text{C}$). Eram descartadas as amostras que contivessem mais do que 10^9 microorganismos/1, e apresentassem crescimento de *S. aureus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus* spp ou outros microorganismos enteropatogênicos.

Os Autores revelaram que vários bebês de baixo peso foram alimentados com o leite deste Banco. Apesar da vulnerabilidade destas crianças, mortalidade e morbidade não foram observadas.

Baseados na susceptibilidade de recém-nascidos de baixo peso às infecções, Williamson et alii (1978), utilizaram os seguintes critérios:

1) O leite poderia ser utilizado sem qualquer tratamento nas seguintes condições:

1a - Ausência de enterobactérias

- 1b - Contagem de *S. aureus* inferior a 10.10^5 colônias/l.
- 1c - Contagem total de bactérias inferior a $2,5.10^6$ /l.
- 1d - Bactérias predominantes deveriam ser provenientes da flora normal da pele.

2) Amostras que necessitassem de pasteurização deveriam possuir antes deste tratamento, as seguintes características:

- 2a - Contagem de bactérias aeróbias inferior 100.10^6 /l.
- 2b - Contagem de *S. aureus* inferior a 10^6 colônias/l.
- 2c - Contagem de microorganismos não próprios da flora normal da pele, inferior a 10^6 colônias/l.

Quanto a eficácia do processo de pasteurização sobre as características microbiológicas do leite, há certa concordância em afirmar que a contagem bacteriana inicial determina o sucesso desta operação (Lucas et alii, 1979, McEnery & Chattopadhyay, 1978). Além disso, altas contagens bacterianas antes da pasteurização podem ocasionar destruição dos componentes do leite humano (Williamson et alii, 1978). Os padrões adotados por Williamson et alii (1978), foram criticados por Lucas et alii (1978) que questionaram sobre a alta tolerância de *S. aureus* (10^3 /ml) no leite humano. Segundo aqueles Autores, a ingestão de leite com baixas contagens de *S. aureus* não apresentou riscos, possivelmente devido ao componente antiestafilocócico termoestável presente no leite (György, 1971).

No entanto, as enterotoxinas termoestáveis do *S. aureus* sobrevivem à pasteurização, podendo causar sérios danos ao prematuro. Em adultos, as intoxicações alimentares ocorrem com alimentos contendo mais do que 100.10^6 colônias de *S. aureus* por litro ou quilograma, (Gilbert, 1974, citado por Williamson et alii, 1978).

Outras pesquisas revelaram a Lucas e Roberts (1979), que a pasteurização (62°C, 30 minutos) eliminava todos os micro organismos patógenos do leite, embora ainda fossem detectadas as bactérias saprófitas.

A fim de assegurar ainda mais a boa qualidade do leite a ser administrado para bebês de alto risco, os Bancos de Leite exigem atestado de saúde das doadoras. Deverão ser ex cluídas doadoras sífilíticas, consumidoras de drogas, cigar ros, álcool, anticoncepcionais (Davy, 1975, Duncombe, 1975) ou portadoras de doenças transmissíveis tais como hepatites B (McEnery & Chattopadhyay, 1978, Williamson et alii, 1978).

6.4. Influência do Processamento e Estocagem sobre os Fatores Nutricionais e Imunológicos do Leite Humano.

Os procedimentos utilizados no passado para assegurar a esterilidade do leite humano nos Bancos (fervura, pasteuriza ção ou esterilização terminal em autoclave), desnaturavam as proteínas, destruíam as células imunocompetentes e muitos dos fatores que tornam este alimento ideal para recém-nascidos pre maturados e de baixo peso (The Special..., 1978). Todos estes fatos sugeriram aos pesquisadores, análises mais cuidadosas de procedimentos de esterilização e estocagem, adotados em Bancos de Leite Humano.

Ford et alii (1977), demonstraram que a pasteurização por 62, 5°C durante 30 minutos, manteve estáveis as concentrações de lisozima, ácido fólico e vitamina B₁₂. No entanto, ocor

reram decréscimos de 20% nas taxas de IgA e destruição da lactoferrina.

Raptopoulou - Gigi et alii (1977), relataram que amostras submetidas a tratamento término (105°C) tornaram-se descontaminadas, incluindo as contaminadas artificialmente por *S. aureus* e *E. coli*. Os autores verificavam que este tratamento destruiu as proteínas IgA e lactoferrina, além de modificar totalmente os padrões imunoeletroforéticos. Já a pasteurização (62,5°C, 30 minutos), não alterou os níveis médios de IgA, lactoferrina ou títulos de hemaglutinina para antígenos de *E. coli*, mantendo-se normais os padrões imunoeletroforéticos.

O tratamento por irradiação gama causou pequenas quedas dos níveis de IgA, alterando bastante as taxas de lactoferrina e os padrões imunoeletroforéticos de ambas as proteínas.

"As divergências nos resultados encontrados por Ford et alii (1977) e Raptopoulou - Gigi et alii (1977), quanto aos danos causados pela pasteurização, poderiam ser devidas às diferenças de técnicas utilizadas durante este tratamento" (Heating..., 1977). "Raptopoulou - Gigi et alii (1977), analisaram amostras de leite integral, não sendo mencionado o volume e o tipo de equipamento utilizado. No entanto, Ford et alii (1977), utilizaram amostras de 1,5 ml acondicionadas em pequenas ampolas de vidro, analisando-as após o descarte do conteúdo lipídico, por centrifugação."

Liebhaber et alii (1977), ao avaliarem o efeito da pasteurização (63°C, 30 minutos), liofilização e congelação (-23°C, 4 semanas) sobre as concentrações de imunoglobulinas e linfócitos no leite humano, concluíram: a) não haver perdas significantes

de IgA ou de títulos de anticorpos anti- *E. coli* nas amostras congeladas; b) que a pasteurização ocasionou uma queda de 33% nas taxas de IgA, enquanto a liofilização resultou em 21% de perda; c) que os três processos diminuíram bastante a contagem total de linfócitos.

Ainda sobre o efeito destes três processamentos nos componentes do leite humano, Evans et alii (1978) registraram de crêscimos acentuados nas taxas de IgA, IgG, lactoferrina, lisozima e complemento C3 após a pasteurização a 73°C, 30 minutos. O tratamento a 62,5°C, 30 minutos, diminuiu em 23,7% a concentração de lisozima, 56,8% de lactoferrina, 34% de IgG, porém não alterou os níveis de IgA. Não foram constatados decrêscimos significantes de lactoferrina, lisozima, IgA, IgG ou complemento C3 nas amostras congeladas a -20°C por 3 meses ou nas liofilizadas. Contudo, após a liofilização as amostras apresentaram uma pequena diferença nos níveis de IgG.

Com referência ao fator bífido, foi demonstrado que a fervura destrói este componente (György, 1971), causando conseqüentemente modificações na flora fecal dos recém-nascidos alimentados com o leite humano submetido a este tratamento (Wilkinson et alii, 1976).

Alguns autores consideram prejudicial a perda de leucócitos viáveis no leite submetido à pasteurização e congelação, pois estes são sintetizadores de IgA, inferferon e macrófagos, (Goldman, 1977).

Há evidências de que o emprego de recipientes de vidro para armazenar o leite, resulta em redução dos macrófagos, pois estas células se aderem às paredes deste material (Pitt, 1976).

Experiências realizadas com animais revelaram que ratos alimentados com leite de ratas de linhagem diferente, desenvolveram sintomas da doença da reação do enxerto versus hospedeiro, talvez induzidas por leucócitos presentes no leite (Beer & Billingham, 1975).

Com base nestes experimentos, Goldman (1977) sugeriu que a perda de células no leite poderia ser favorável, pois não existiria o perigo de se desenvolver este tipo de reação em bebês imunodeficientes que recebem as células através do leite das doadoras.

Pitt (1976) comenta algumas implicações associadas ao uso do leite humano provindo dos Bancos. "O leite congelado ou refrigerado poderá conter bactérias ou vírus tais como citomegalovírus e antígeno Austrália, provenientes das doadoras.

Por outro lado, a esterilização por filtração diminui a qualidade nutricional do leite por excluir grande parte das taxas de gorduras, causando remoção dos leucócitos".

Williamson et alii (1978), observaram que amostras de leite humano estocadas por 3 semanas a -18°C , apresentavam aumento nas taxas de ácidos graxos livres. Foi demonstrado "in vitro" que o leite com estas características inibia a conjugação de bilirrubina (Foliot et alii, 1976) o que poderia ocasionar a icterícia nos recém-nascidos (Williamson et alii 1978).

6.5. Montagem e Operacionalização dos Bancos de Leite Humano.

Com relação aos problemas pertinentes à implantação de

Bancos de Leite em Maternidades, há alguns comentários de natureza econômica.

Apesar do custo elevado para a montagem de Bancos de Leite Humano, devido à necessidade de equipamentos e exames laboratoriais especiais, os gastos são compensados pelo fato de ser o alimento de maior eficiência na recuperação ao recém-nascido doente (Davy, 1975). Os gastos com a operacionalização poderão ser minimizados se houver cooperação entre a comunidade, organizações voluntárias, pessoal de saúde e administrativo (Duncombe, 1975).

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Seleção das Doadoras e Coleta da Amostra:

Amostras de colostro humano foram coletadas por bomba de sucção a vácuo (Ordenhadeira Olidef CZ-1/8 HP de sucção descontinua a vácuo-regulagem manual) durante 6 meses, de 87 nutrízes voluntárias que haviam dado a luz entre 24 e 96 horas. As parturientes estavam internadas na Maternidade de Campinas ou no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (Santa Casa). Antes da coleta as doadoras eram entrevistadas por nós, e suas respostas conferidas através de seus prontuários médicos (Apêndices 2 e 3).

As amostras foram classificadas em 2 grupos, conforme a prática de coleta utilizada em cada local e o nível sócio-econômico da doadora, avaliado pelo tipo de leite hospitalar escolhido pela gestante.

Grupo 1: Na Maternidade de Campinas, as amostras foram colhidas no quarto da parturiente, ou na sala de amamentação conforme o estado de saúde e a disposição da doadora. As doadoras

pertenciam à categoria de previdenciárias ocupando quartos de 4 a 5 leitos. O número de doadoras variou de 2 a 8, sendo extraído até 200 ml em cada coleta (Discussão).

Para a extração utilizou-se a bomba de sucção a vácuo, cujos dispositivos foram desinfetados em solução "MILTON" (Hipoclorito de Sódio equivalente a 1% de cloro ativo, ou 10.000 p.p.m., Cloreto de Sódio 16,5%) a 1,5% por 15 minutos.

Grupo 2: Na Maternidade da Santa Casa o material foi colhido na sala de amamentação, através da bomba de sucção a vácuo cujos dispositivos foram esterilizados em autoclave a 121°C, durante 15 minutos. As puérperas pertenciam à categoria de indigentes, sem recursos e sem proteção previdenciária de qualquer espécie, ocupando quartos de alojamento conjunto com 8 a 10 leitos. O número de doadoras variou de 2 a 6, conseguindo-se obter o volume de até 100 ml em cada coleta.

Em ambos os grupos, realizou-se a coleta no período compreendido entre 7:00 e 11:00 horas da manhã, tentando-se obter o máximo de volume do colostro nos dois seios das nutrízes. As doadoras foram previamente instruídas para lavar suas mãos e fazer assepsia dos mamilos (gaze esterilizada embebida em água boricada), sob nossa supervisão. Também foram prevenidas para não falar durante a coleta.

Em cada coleta, as amostras das diferentes doadoras foram colhidas no mesmo frasco (antes esterilizado em estufa a 170°C, durante 2 horas) adaptado na bomba de sucção a vácuo. O volume obtido foi individualmente medido por aproximação, no frasco (graduado até 300 ml). Após a coleta, os frascos foram transportados em caixa de isopor com gelo a 0°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), para

a Universidade Estadual de Campinas.

2. Recepção e Processamento:

As amostras foram analisadas e processadas de imediato à chegada ao laboratório.

Alíquotas do colostro foram retiradas assepticamente do frasco e analisadas em estado fresco, congelado após 1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas, liofilizado após 4, 8 e 12 semanas de estocagem a -18°C e depois de pasteurizado. (Fluxograma - Figuras 1, 2, 3). Os recipientes utilizados para o armazenamento e processamento das alíquotas, foram, esterilizados em estufa a 170°C , 2 horas.

2.1. Congelação.

O colostro armazenado em frascos tipo pirex de rolha esmerilhada, capacidade para 125 ml, foi congelado em congeladores comerciais nas temperaturas de -10°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$); -18°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e -40°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$).

A descongelação foi efetuada em banho maria a 44.5°C (Unitemp-Controlador de Temperatura Constante - FANEM LTDA), sob constante agitação. Observou-se que o tempo de descongelação nessas condições, não ultrapassou 2 minutos.

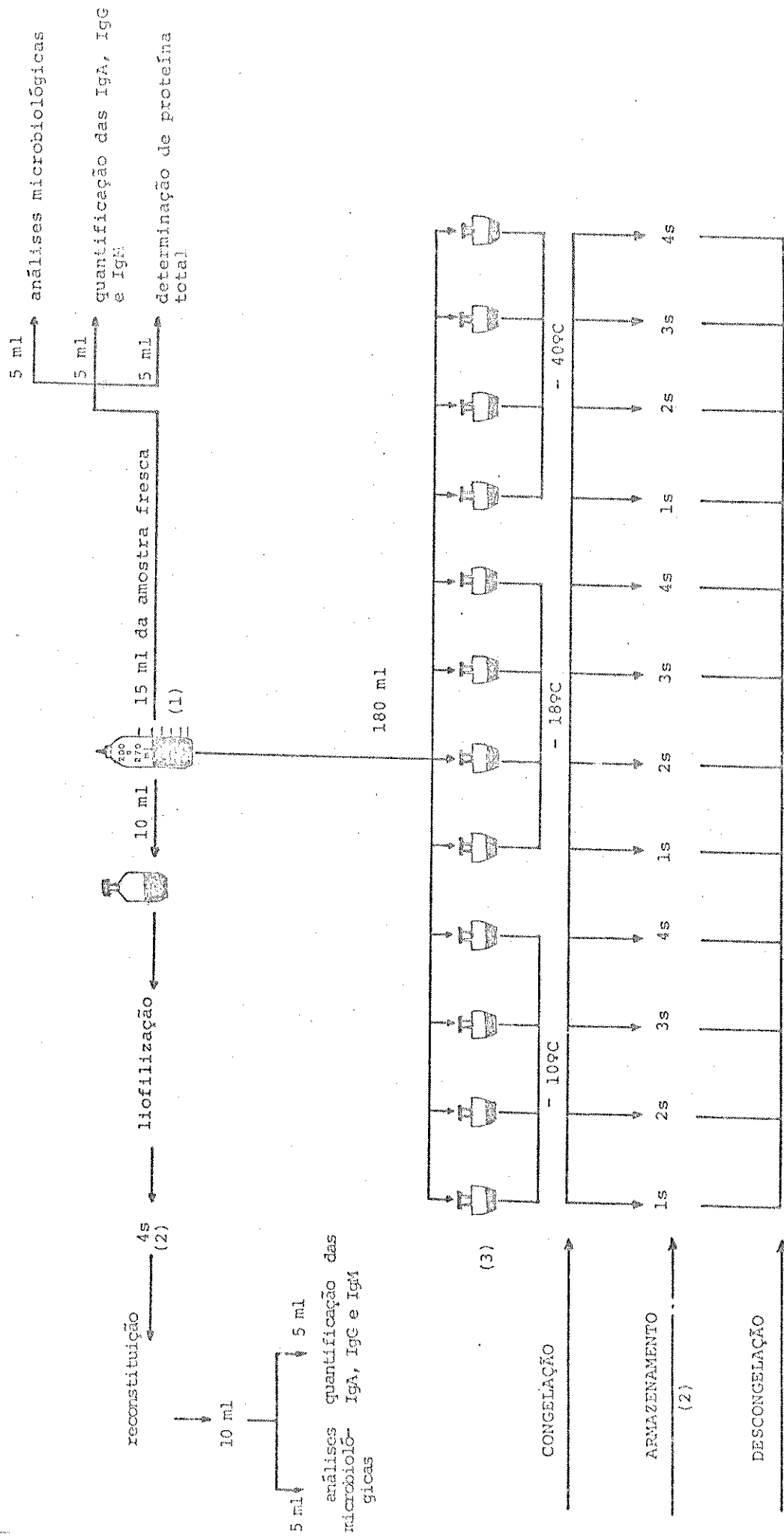


FIGURA 1 - FLUXOGRAMA EMPREGADO PARA O PROCESSAMENTO E ANÁLISES DO COLOSTRO HUMANO FRESCO, CONGELADO POR 1, 2, 3 e 4 SEMANAS E LIOFILIZADO POR 4 SEMANAS.

(1) Mamadeira com 200 a 270 ml de colostro fresco - (2) Período de armazenamento em semanas (s) - (3) Cada frasco com 15 ml de colostro - (4) De cada fresco foram retirados 5 ml para análises microbiológicas e 5 ml para quantificação das IgA, IgG e IgM.

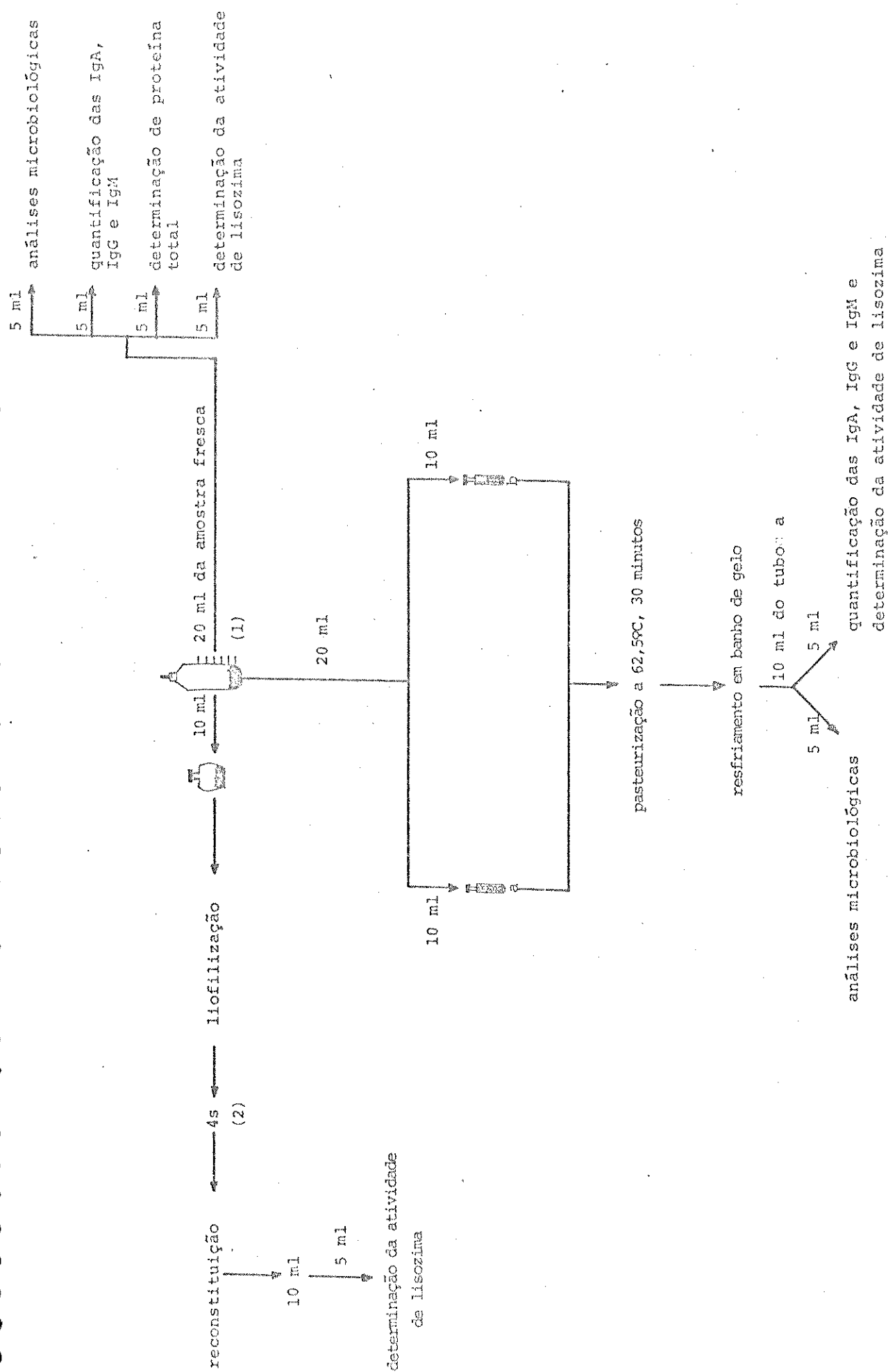


FIGURA 3 - FLUXOGRAMA EMPREGADO PARA O PROCESSAMENTO E ANÁLISES DO COLOSTRO HUMANO FRESCO, LIOFILIZADO POR, 4 SEMANAS E APÓS PASTEURIZADO

(1) Mamadeira com 50 a 80 ml de colostro fresco - (2) Período de armazenamento em semanas (s)

2.2. Pasteurização.

Tubos tipo pirex com rolha de rosca (16 mm x 150 mm), a condicionaram alíquotas de colostro submetidas à pasteurização de Laboratório em aparelho de banho maria (Unitemp-Controlador de Temperatura Constante - FANEM LTDA) a 62,5°C, 30 minutos. Os recipientes foram mantidos sob constante agitação, até que atingissem a temperatura desejada, permanecendo estáticos durante 30 minutos. O resfriamento foi efetuado em banho de gelo picado com freqüentes agitações.

2.3. Liofilização.

Frascos tipo penicilina, com tampa de borracha, foram utilizados para armazenar alíquotas do colostro a serem liofilizadas. A operação se constituiu de uma prévia congelação por 10 minutos em sistema circulante de nitrogênio líquido com mistura de éter e acetona a - 20°C. Em seguida os frascos foram adaptados no liofilizador (Ultra Cryolizer modelo B67, New Brunswick Scientific Co., New Jersey) a - 73°C, a pressão de 50 microns de Hg. A operação durava em média 6 a 8 horas. Após liofilizadas, as alíquotas foram estocadas em congelador comercial a - 20°C ($\pm$ 2°C).

A reconstituição foi efetuada com água estéril, baseando-se na percentagem de sólidos totais do colostro humano (12,8% - Macy, 1947).

3. Dosagem de Proteínas:

As determinações de proteína total no colostro fresco, foram realizadas utilizando o método micro kjeldahl descrito no Official Methods of Analyses, 1970 (A.O.A.C.). A proteína total foi calculada, multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio total pelo fator 6,38 (Heyndrickx, 1962).

Outras concentrações de proteínas foram determinadas pelo reativo de fenol (Hartree, 1971) e/ou pelo reativo de buireto segundo Weichselbaum, 1945).

4. Análises Microbiológicas:

As diluições foram efetuadas em frascos de Erlenmeyer, adicionando-se aos 45 ml de solução salina estéril a 0,85%, 5 ml de cada um dos tipos de amostra: fresca, congelada, liofilizada e pasteurizada. A partir desta primeira diluição (10^{-1}), foram preparadas diluições sucessivas até atingir a diluição de 10^{-6} . Estas diluições foram selecionadas em fases preliminares do trabalho. Os tubos e os frascos contendo as diluições foram homogeneizados por agitação manual. Concluídas as diluições, estas foram inoculadas nos meios usados, em placas de Petri duplicadas e tubos em triplicata.

A metodologia, diluições e condições de incubação, seguiram as normas do American Public Health Association, (1971), e Food and Drug Administration, (1976).

Os meios de cultura foram preparados obedecendo-se as instruções dos fabricantes.

Os resultados foram expressos em números de microorganismos por ml de colostro.

4.1. Contagem Total de Bactérias Mesófilas.

Em meio PCA (Plate Counted Agar) da BBL, utilizando-se o contador Erma Optical Work, Ltda., nas placas em que o número total de colônias estivesse entre 30 a 300. As placas foram incubadas a 30°C, procedendo-se as leituras em 24 e 48 horas.

4.2. Determinação de Coliformes - Exame Presuntivo.

Em série de 3 tubos de Lauryl Tryptose Broth, da BBL, contendo tubos de Duhram, seguindo-se a metodologia do número mais provável, conforme instruções de Oblinger e Koburger, (1975). A incubação foi efetuada a 37°C e as leituras após 24 e 48 horas. Coliformes Fecais - Exame Confirmatório - A partir dos tubos de Lauryl Tryptose Broth em que houve produção de gás, foram feitas inoculações em tubos com caldo EC (*Escherichia coli* Medium), da BBL, contendo tubos de Duhram. Este meio foi incubado em banho-maria com termostato ajustado para 44,5°C $\pm$ 0,2°C, por 24 horas. Após este período foi feita a leitura dos tubos em que houve produção de gás, sendo os demais reincubados por mais 24 horas. Dos tubos de caldo EC em que houve produção de gás, colheu-se uma alçada e semeou-se por estrias em placas de Agar de Levine (Eosine Metil Blue). O meio foi incubado a 37°C, por 24 horas.

Em virtude de não ter havido crescimento de colônias com as características típicas de coliformes fecais, em todas as amostras, não foi desenvolvida a metodologia de identificação destes microorganismos.

4.3. Enterococcus.

Em meio KF *Streptococcus* Agar, da Difco, adicionado de solução a 1% de TTC (2, 3, 5 - Triphenil tetrazolium chloride). As placas foram incubadas a 37°C, sendo efetuada a contagem de colônias típicas após 24 e 48 horas.

4.4. Determinação e Identificação de *Staphylococcus aureus*.

Em meio Baird Parker, da Difco, adicionado de gema de ovo (previamente emulsionada em solução salina estéril a 0,85%) e de solução estéril de telurito de potássio (Bacto Ey Tellurite Enrichment) a 1%.

A contagem de colônias típicas foi efetuada após incubação das placas a 37°C, por 24 e 48 horas. Colônias pretas, brilhantes e rodeadas de zonas claras, foram coletadas, incubadas e homogeneizadas em meio de BHI (Brain Heart Infusion), da Difco, a 37°C, por 24 horas. Após o período de incubação foram realizados ao mesmo tempo, testes confirmatórios para *Staphylococcus aureus* enteropatogênico:

- Teste da coagulase - Foi utilizada a metodologia descrita no Food and Drug Administration, (1976).

A atividade de coagular foi determinada em plasma de coelho liofilizado da Difco, reconstituído com 3,0 ml de água destilada estéril. Foram considerados positivos os tubos onde ocorreu a formação de grumos ou coágulos, até 6 horas de incubação a 37°C.

- Teste da DNA'se (desoxi-ribonuclease) - Foi realizado de acordo com as instruções do Food and Drug Administration, (1976).

O meio Agar-DNA-azul de toluidina (Toluidine blue DNA agar-TBDA) preparado segundo Lachica et alii (1971) foi distribuído de maneira uniforme na superfície das lâminas de microscópio, formando uma camada solidificada. A camada foi perfurada formando orifícios de 2 mm de diâmetro. Estes orifícios foram inoculados com as culturas do meio BHI, aquecidas (ebulição por 15 minutos) e não aquecidas, para determinação das atividades termodúrica e termolábil das nucleases, respectivamente. Foram consideradas positivas as lâminas em que se desenvolveu um halo róseo brilhante na periferia do orifício, após incubação por 4 horas a 37°C.

5. Análises Imunoquímicas:

5.1. Determinação do Nível de Imunoglobulinas IgA, IgG e IgM.

Aliquotas do colostro (5 ml) foram centrifugadas a 14.000 r.p.m., 0°C, 1 hora, para retirada do sedimento e da camada de lipídios.

As imunoglobulinas IgA, IgG e IgM foram quantificadas no sobrenadante, pela técnica da imunodifusão radial simples (Mancini et alii, 1965), em placas comerciais de gel de agaro se, contendo anti-soro de carneiro monoespecífico para cadeias pesadas de cada imunoglobulina. IgM e IgG foram quantificadas em placas Diffu-Gen (Oxford Laboratories, Foster City, Califórnia, U.S.A.), sendo aplicado um volume de 5 μ l.

A precisão para quantificação da IgM e IgG, foi estabelecida em cada placa, com soros padrões de referência, em três concentrações conhecidas, conforme instruções do laboratório fabricante (Oxford Laboratories).

Os valores de imunoglobulinas foram expressos em termos de mg de imunoglobulina por 100 ml de colostro, conforme recomendação da Organização Mundial de Saúde, U.N.

IgA secretória foi quantificada em placas comerciais Diffu-Gen da Oxford Laboratories, ou Tri-Partingen da Behring Institut. Foi aplicado um volume de 5 μ l da amostra previamente diluída com salina fisiológica a 0,9%. A concentração de IgA foi corrigida conforme a diluição efetuada e expressa em mg de IgA por 100 ml de colostro. Todas as determinações de IgA do colostro foram realizadas frente a um padrão de IgA 11 S colostal de concentração conhecida.

5.2. Purificação da IgA Secretória.

A IgA secretória foi isolada segundo as instruções descritas por Newcomb et alii (1968), com algumas modificações, sendo analisada por técnica de imunoeletroforese simples e cru

zada.

O colostro humano misturado com igual volume de NaCl 0,15 M, foi centrifugado a 20.000 r.p.m., 1 hora, 0°C. Eliminados o sedimento e a camada de lipídios obteve-se um sobrenadante límpido que ajustado ao pH 8,0 foi dialisado contra 3 x 2 litros de tampão Tris (trihidroximetilaminometano) - HCl 0,01 M, pH 8, por 48 horas a 4°C. Após a diálise, o resíduo insolúvel foi separado por centrifugação.

Cromatografia em DEAE - CELULOSE: A amostra foi cromatografada em coluna (40 x 3 cm) da DEAE (dietilaminoetil) - celulose (DE-52, Whatman), previamente equilibrada e eluída com tampão Tris-HCl 0,01 M, pH 8. O fluxo da coluna foi controlado um ritmo de 60 ml/h, coletando-se amostras de 10 ml/tubo. Após a obtenção da primeira fração de proteínas, foi adicionado uma série de soluções de força iônica crescente de diferentes concentrações: NaCl 0,03 M, NaCl 0,05 M, NaCl 0,10 M e NaCl 2,0 M, respectivamente em tampão Tris HCl 0,01 M, pH 8,0. As frações eluídas com NaCl 0,10 M, foram concentradas por ultrafiltração, utilizando-se membranas "DIAFLO" PM 10 (Amicon) ou por liofilização. Após a concentração, a fração foi preparada para a cromatografia de exclusão através da diálise contra salina tamponada com borato pH 8, a 4°C, durante 18 horas e centrifugada a 20.000 r.p.m., durante 20 minutos a 0°C.

Filtração em sephadex G-200: Amostras de 10 ml foram aplicadas a uma coluna (108 x 2 cm) de Sephadex G - 200 (Pharmacia Upsala), previamente equilibrada em solução salina tamponada com borato 0,01 M, pH 8,0. O material foi eluído com o

mesmo tampão a um ritmo de 19 ml/h, coletando-se amostras de 2,0 ml por tubo. As frações constituintes da parte descendente do primeiro pico de proteínas foram reunidas, concentradas por liofilização e reaplicadas na mesma coluna. Foram coletadas amostras de 5 ml por tubo com um fluxo de 22 ml/h.

A absorbância foi medida no comprimento de onda de 280 nm de um espectrofotômetro Zeiss PMQ III, utilizando-se cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

Análise imunoeletroforéticas - Nos diferentes estágios de purificação, as frações obtidas foram analisadas por imunoeletroforese simples (Grabar e Williams, 1955) e/ou imunoeletroforese cruzada ou bidimensional de Lawrell, conforme indicações de Weeke descritas em Axelsen et alii (1973).

Imunoeletroforese simples foi efetuada nas seguintes condições: gel de agarose a 1% em tampão veronal 0,05 M, pH 8,6 distribuído em lâminas de vidro (18 x 9 x 0,15 cm). Foi aplicada uma diferença de potencial de 6 voltz/cm, durante 1 hora. Terminada a corrida, as placas permaneceram em câmara úmida por 24 horas, sendo então lavadas com solução 0,15 M de NaCl, prensadas a 37°C e coradas por Comassie Blue.

Placas (12 x 9 x 0,15 cm) de gel de agarose a 1% em tampão veronal 0,05 M, pH 8,6 foram utilizadas para os ensaios de imunoeletroforese cruzada. As placas, contendo as amostras para análise, foram submetidas a um gradiente de potencial de 6 volts/cm, durante 1 hora na primeira dimensão, e 2 volts/cm, por 15 horas na segunda dimensão a temperatura de 4°C. Antes da eletroforese na segunda dimensão, uma faixa central da placa do gel foi retirada, e este espaço preenchido com a mistura de agarose e soro anti-IgA na diluição de 1:30. As placas foram

lavadas, prensadas e coradas nas mesmas condições citadas para análise por imuno-elektroforeses simples.

Foram empregados nestes ensaios os seguintes imunossoros e antígenos: anti-soro humano total (obtido em coelho), soro anti-IgA (obtido em carneiro), soro humano total e anti-IgA padrão (Hyland), gentilmente cedidos pelo Dr. Paulo M. F. de Araújo do Instituto de Biologia da Unicamp.

6. Atividade de Lisozima:

A lisozima foi determinada segundo a metodologia descrita por Smolelis e Hartsell (1949), modificada e adaptada para o colostro. O procedimento modificado envolveu a centrifugação de alíquotas de 5 ml do colostro a 14.000 r.p.m., 0°C, 1 hora, para obtenção de um sobrenadante límpido. As alíquotas foram misturadas com tampão fosfato, 0,06 M, pH 6,2 em diluições progressivas de 1:20 a 1:3.200 e adicionadas de igual volume de um substrato que consistia de células mortas de *Micrococcus lysodeikticus* (Difco). O substrato foi diluído no mesmo tampão na concentração apropriada para resultar em 10% de transmissão. Todas as misturas foram feitas em duplicata e incubadas à temperatura ambiente por 20 minutos.

A absorbância foi lida em espectrofotômetro "Spectronic 20" da Bauch & Lomb, calibrado para 540 nm com o padrão branco (água destilada), utilizando-se tubos de 11 cm x 1,5 cm.

Os resultados foram expressos em mg de atividade de enzima (multiplicado pelo fator de diluição) por ml de colostro, determinada de uma curva padrão de lisozima cristalina (Difco).

As misturas da lisozima padrão foram preparadas como citado acima para as amostras de colostro, em diluições progressivas de 1:200.000 a 1:6.400.000 que correspondiam a concentrações de 0,00015 a 0,005 mg/ml. Para o traçado da curva padrão foram colocados, na ordenada, os valores de absorbância e na abcissa os valores de concentração da enzima, estes últimos em escala logarítmica.

A atividade lítica do colostro foi determinada nas amostras frescas, pasteurizadas e liofilizadas.

7. Análise Estatística:

Foram utilizados o Teste T-"STUDENT" e análise da variância. A significância dos resultados foi estabelecida ao nível de 5%.

RESULTADOS

1. Determinação dos Fatores que Influenciaram na Coleta da Amostra:

Contribuíram para este estudo 87 puérperas nutrizes, 49 internadas na Maternidade de Campinas (Grupo 1), e 30 na Maternidade da Santa Casa, (Grupo 2). As 8 doadoras restantes foram selecionadas de ambas as maternidades e doaram o colostro exclusivamente para o isolamento da IgA secretória. Foram efetuadas 9 coletas em cada maternidade.

A fim de identificarmos algumas variáveis que poderiam influir na qualidade e rendimento do colostro humano coletado para Bancos de Leite, elaboramos um questionário padrão para as doadoras (Apêndices 2 e 3). Nas duas maternidades, em que coletamos o material, variaram a categoria social da doadora, o local de coleta e a técnica de esterilização dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

Os resultados da Tabela 05 expressam o volume médio de colostro obtido por coleta e a respectiva concentração proteica, nos dois grupos de doadoras.

TABELA 05

Volume de colostro em ml obtido por coleta, e concentração proteica em g/ 100 ml, segundo a categoria social da doadora, em dezoito coletas

Número de doadoras por coleta	Volume médio (ml)	Concentração proteica (g/ 100 ml)
Grupo 1 - previdenciárias		
5	40,00 ± 12,25	2,20
7	14,29 ± 12,39	3,28
7	14,29 ± 6,07	3,28
5	20,00 ± 14,58	2,04
6	33,33 ± 33,27	2,98
6	40,00 ± 16,73	1,60
8	25,63 ± 20,60	2,20
3	20,00 ± 17,32	2,17
2	35,00 ± 21,21	1,83
Grupo 2 - indigentes		
4	25,00 ± 36,74	2,44
6	13,33 ± 18,07	3,16
2	37,50 ± 10,61	2,33
3	25,00 ± 5,00	3,39
3	16,67 ± 5,77	2,98
4	15,00 ± 12,25	3,39
3	20,67 ± 25,72	3,43
2	27,50 ± 3,54	2,24
3	23,33 ± 5,77	3,21

A média de volume obtido das doadoras previdenciárias (grupo 1) foi de 26,02 ml/coleta $\pm$ 19,58, e a concentração protéica média foi de 2,40 g/100 ml $\pm$ 2,33. Das nutrizes indigentes (grupo 2) obtivemos um volume médio de 20,90 ml/coleta $\pm$ 17,69, sendo que a concentração protéica média foi de 2,97g/100 ml $\pm$ 2,83. As diferenças não foram estatisticamente significantes ao nível de 5%.

Contudo, outras variáveis inerentes à puérpera tiveram influência sobre o volume obtido, tais como o período de lactação em que se efetuava a coleta, a patologia da mama e o tipo de parto. As variações do volume de colostro obtido conforme o período de lactação da doadora, foram estatisticamente significantes ($p < 0,05$). De acordo com a Tabela 06, o volume de colostro aumentava em proporção ao espaçamento do parto.

TABELA 06

Volume médio de colostro em ml obtido de 79 doadoras, segundo o período de lactação.

Período de lactação (após o parto)	Número de doadoras	Volume médio (ml)
Até 24 horas	10	9,50 $\pm$ 5,98
25 a 48 horas	39	23,64 $\pm$ 17,17
2 a 3 dias	20	27,25 $\pm$ 23,92
3 a 4 dias	10	34,00 $\pm$ 15,77

Das patologias que se apresentam na mama após o parto foram verificadas somente fissuras e retração do mamilo. As

doadoras que apresentaram estes problemas sentiam dificuldade de extrair o colostro, resultando em rendimento de volume significativamente menor ($p < 0,05$), como demonstrado na Tabela 07.

TABELA 07

Volume médio de colostro em ml obtido de 79 doadoras, segundo a patologia da mama após o parto.

Patologia da mama	Número de doadoras	Volume médio (ml)
Nenhuma	69	26,30 $\pm$ 19,05
Fissuras	07	9,57 $\pm$ 9,46
Retração do mamilo	03	6,67 $\pm$ 2,89

Quando se comparou o tipo de parto a que se submeteram as parturientes em relação ao volume de colostro obtido, observou-se que a diferença era muito significativa ($p < 0,01$), havendo menor rendimento para as doadoras que fizeram cesariana (Tabela 08).

TABELA 08

Volume médio de colostro em ml obtido de 79 doadoras, segundo o tipo de parto.

Tipo de parto	Número de doadoras	Volume médio (ml)
Normal	57	28,33 $\pm$ 19,53
Cesariana	22	13,04 $\pm$ 11,72

Entretanto, a diferença não foi significativa quando se comparou o volume de colostro obtido de doadoras com ou sem complicações após o parto (Tabela 09).

TABELA 09

Volume médio de colostro em ml obtido de 79 doadoras, segundo complicações após o parto.

Complicação após parto	Número de doadoras	Volume médio (ml)
Nenhuma	68	25,66 ± 19,37
Deiscência	03	13,33 ± 14,43
Hérnia Umbilical	04	10,50 ± 13,07
Infecção períneo vulvo vaginal	03	21,67 ± 14,43
Hemorragias puerperais	01	10,00 ± ***

*** - indica maior que 100%

Os resultados da Tabela 10 demonstram que as puérperas multíparas produziram maior quantidade de colostro do que as primíparas, sendo esta diferença muito significativa ($p < 0,01$).

TABELA 10

Volume médio de colostro em ml obtido de 79 doadoras, segundo o número de partos.

Número de partos	Número de doadoras	Volume médio (ml)
Primípara	25	21,68 ± 14,72
Multípara	54	25,19 ± 20,63

2. Análises Microbiológicas:

Efetuamos as análises microbiológicas e imunológicas nas amostras frescas e processadas com o propósito de verificarmos quais as mudanças que ocorreram durante o processamento tecnológico e estocagem.

Das dezoito amostras de colostro fresco, nove foram congeladas a -10°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$), -18°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e -40°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e analisadas após 1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas (três amostras para cada período). Alíquotas de nove amostras foram também liofilizadas e analisadas após 4, 8 e 12 semanas (três amostras para cada período). As nove amostras restantes foram divididas em alíquotas e analisadas após pasteurizadas, e liofilizadas por 4 semanas. As temperaturas dos congeladores comerciais foram controladas de três em três dias.

A qualidade microbiológica das amostras de colostro fresco, das doadoras do grupo 1 e 2, foi analisada em nove amostras de cada grupo.

As Tabelas 11 e 12 apresentam resultados relativos à contagem total de bactérias mesófilas e a frequência dos microorganismos, respectivamente encontrados nas amostras de colostro fresco.

As amostras do grupo 2 apresentaram contagem total de bactérias mesófilas mais baixa do que as do grupo 1. A diferença entre as médias da contagem nos dois grupos mostrou-se significativa ($p < 0,05$).

TABELA 10

Quantidade de amostras de colostro fresco com contagem de bactérias mesófilas totais abaixo e acima de $5.0.10^4$ microorganismos/ml, nos dois grupos de doadoras.

Grupo de doadoras	Contagem bacteriana (microorganismos/ml)		
	$3,6.10^3$ a $5,0.10^4$	$5,1.10^4$ a $6,0.10^7$	Contagem Média
Grupo 1	02	07	$1,84.10^7 \pm 2,06.10^7$
Grupo 2	09	00	$1,2.10^4 \pm 0,64.10^4$

O crescimento de coliformes fecais não foi observado nas amostras de ambos os grupos, por isso não se desenvolveu a metodologia de determinação do microorganismo *Escherichia coli*.

Contudo as amostras do grupo 1 mostraram-se bem mais contaminadas por coliformes totais e *Streptococcus faecalis*. Não foram calculadas as médias de contagem bacteriana dos grupos de microorganismos citados acima, para as amostras do grupo 2, pois apresentaram muitos "ausentes em 1 ml".

A contagem média de coliformes totais nas amostras das doadoras do grupo 1, foi de $2,6.10^4 \pm 4,7.10^4$ microorganismos por mililitro.

O microorganismo *Streptococcus faecalis* esteve presente em todas as amostras das doadoras do grupo 1. Estas amostras apresentaram contagem média de $7,6.10^6 \pm 7,3.10^6$ colônias de *S. faecalis* por mililitro. A comparação desta contagem média com a de mesófilos totais do colostro do mesmo grupo de doadoras, pode indicar que o *S. faecalis* se constitui no principal representante da flora microbiológica destas amostras.

Quanto a contagem de *Staphylococcus aureus*, as duas amostras apresentaram-se bastante contaminadas. A média de contagem para o grupo 1 foi de $5,8.10^4 \pm 9,8.10^4$ microorganismos

TABELA 12

Quantidade de amostras de colostro humano fresco de acordo com a freqüência e contagem dos microorganismos por ml, encontrados nos dois grupos de doadoras.

Microorganismos	Contagem bacteriana (microorganismo/ml)							
	Ausente em 1 ml		0,4.10 ¹ a		5.1.10 ² a		5,1.10 ³ a	
	5,0.10 ²		5,0.10 ³		5,0.10 ⁵		5,1.10 ⁵ a	
Grupo de doadoras								
	1	2	1	2	1	2	1	2
Coliformes Totais	1	7	2	2	3	-	3	-
<i>Escherichia coli</i>	9	9	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	8	-	1	2	-	-	7
<i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase negativa)	-	-	-	5	5	2	1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positiva)	-	-	-	-	-	2	3	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (DNA'se negativa)	-	-	-	5	4	3	3	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (DNA'se termoresistente)	-	-	-	-	1	-	1	-

mos/ml, existindo diferença significativa entre as médias dos dois grupos ao nível de 1%.

Três amostras do grupo 1 apresentaram-se contaminadas por *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, sendo que em uma delas detectou-se também a presença de *S. aureus* DNA'se termodúrico.

Somente em duas amostras do grupo 2 foi constatado *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, porém em nenhuma delas encontrou-se *S. aureus* DNA'se termodúrico.

O *Staphylococcus aureus* foi o microorganismo predominante, pois esteve presente em todas as amostras analisadas. No entanto, somente cinco amostras apresentaram crescimento de *S. aureus* com características patogênicas (coagulase positiva ou DNA'se termodúrico).

As Tabelas 13 a 21 mostram a influência dos tipos de processamento e estocagem sobre a flora microbiana inicial do colostro fresco sem considerar-se a que grupo de doadoras pertence a amostra.

Com referência a congelação, as tabelas 13 a 16 demonstraram que as amostras congeladas apresentaram contagens microbianas similares às correspondentes amostras frescas. As diferentes temperaturas de congelação (-10°C, -18°C e -40°C) e os períodos de estocagem (1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas) praticamente não aumentaram ou diminuíram o número de colônias, de início, presentes, sobretudo quando as amostras frescas apresentavam contagens acima de 10^4 microorganismos por mililitro. Com exceção da amostra número 4 (Tabelas 13, 14 e 15) que apresentou algum aumento na contagem total de mesófilos, coliformes totais e *Streptococcus faecalis*, quando analisada

após 8 semanas de estocagem a -10°C , -18°C e -40°C . A congela
ção diminuiu o número de colônias das amostras que em princí
pio apresentavam contagens abaixo de 10^4 microorganismos por
mililitro.

Os resultados das Tabelas 14, 15 e 16 indicaram que o co
lostro pode ser mantido congelado, sem que haja desenvolvimen
to de microorganismos.

A Tabela 16 apresenta a contagem total de *Staphylococcus*
aureus nas amostras, havendo um pequeno decréscimo no número
de colônias quando o colostro era submetido à congelação. As
amostras 1, 3 e 4 também apresentaram colônias de *S. aureus*
coagulase positiva e as amostras 3 e 6 colônias de *S. aureus*
DNA'se termodúrico, que persistiram após a congelação.

As Tabelas 17 a 20 apresentam resultados referentes ao
efeito da liofilização e períodos de estocagem a -18°C (4, 8 e
12 semanas) sobre as contagens bacterianas iniciais das res
pectivas amostras frescas.

As amostras que tiveram contagens bacterianas iniciais
abaixo de 10^4 microorganismos por mililitro, apresentaram um
decréscimo no número de colônias quando analisadas depois de
liofilizadas e reconstituídas. Aparentemente os diferentes pe
ríodos de estocagem a -18°C não influenciaram no aumento ou di
minuição do número de colônias.

As amostras frescas cujas contagens bacterianas ultrapas
saram a 10^4 microorganismos por mililitro, não modificaram mui
to o número de colônias quando analisadas após liofilizadas e
reconstituídas.

A Tabela 20 apresenta a contagem total de *Staphylococcus*

TABELA 13

Efeitos de diferentes temperaturas em °C e períodos de estocagem em semanas no congelador, sobre a contagem de bactérias mesófilas totais por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Contagem bacteriana (microorganismo/ml)								
Colostro fresco	7,8.10 ⁶	4,1.10 ⁷	6,7.10 ⁶	1,3.10 ⁷	4,9.10 ³	6,4.10 ⁶	2,9.10 ⁷	1,9.10 ⁴	6,0.10 ⁷
Colostro congelado:									
- 10°C, 1 semana	3,5.10 ⁶	2,3.10 ⁷	3,0.10 ⁶						
- 10°C, 2 semanas	7,0.10 ⁶	4,9.10 ⁷	8,7.10 ⁶						
- 10°C, 3 semanas	2,4.10 ⁶	3,9.10 ⁷	2,8.10 ⁶						
- 10°C, 4 semanas	3,6.10 ⁶	4,9.10 ⁷	5,1.10 ⁶						
- 10°C, 8 semanas				4,2.10 ⁷	2,0.10 ²	6,2.10 ⁶	7,9.10 ⁷	1,0.10 ³	4,0.10 ⁷
- 10°C, 12 semanas									
- 12°C, 1 semana	3,3.10 ⁶	1,6.10 ⁷	3,2.10 ⁶						
- 12°C, 2 semanas	6,0.10 ⁶	1,6.10 ⁷	7,5.10 ⁶						
- 12°C, 3 semanas	3,4.10 ⁶	4,0.10 ⁷	7,9.10 ⁶						
- 12°C, 4 semanas	9,0.10 ⁶	3,8.10 ⁷	6,2.10 ⁶						
- 12°C, 8 semanas				4,8.10 ⁷	6,0.10 ²	9,0.10 ⁶	9,6.10 ⁷	3,7.10 ³	3,2.10 ⁷
- 12°C, 12 semanas									
- 40°C, 1 semana	3,6.10 ⁶	1,6.10 ⁷	1,1.10 ⁶						
- 40°C, 2 semanas	5,9.10 ⁶	6,0.10 ⁷	5,7.10 ⁶						
- 40°C, 3 semanas	3,0.10 ⁶	9,8.10 ⁷	8,0.10 ⁶						
- 40°C, 4 semanas	4,2.10 ⁶	5,2.10 ⁷	7,4.10 ⁶						
- 40°C, 8 semanas				4,8.10 ⁷	9,0.10 ²	5,6.10 ⁶	9,0.10 ⁷	2,8.10 ³	4,4.10 ⁷
- 40°C, 12 semanas									

TABELA 14

Efeitos de diferentes temperaturas em °C e períodos de estocagem em semanas no congelador, sobre a contagem de bactérias coliformes totais por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Contagem bacteriana (Número Mais Provável/ml)								
Colostro fresco	1,1.10 ⁴	< 1,1.10 ⁴	< 1,1.10 ⁴	1,5.10 ³	ausente em 1 ml	9,3.10 ²	4,3.10 ²	ausente em 1 ml
								2,4.10 ³
Colostro congelado:								
- 10°C, 1 semana	1,1.10 ⁴	2,9.10 ³	1,1.10 ⁴					
- 10°C, 2 semanas	< 1,1.10 ⁴	2,9.10 ³	1,1.10 ⁴					
- 10°C, 3 semanas	1,5.10 ³	2,1.10 ³	1,1.10 ⁴					
- 10°C, 4 semanas	4,6.10 ³	9,3.10 ²	1,1.10 ⁴					
- 10°C, 8 semanas				< 1,1.10 ⁴	ausente em 1 ml	3,9.10 ¹	9,3.10 ¹	ausente em 1 ml
- 10°C, 12 semanas								
- 18°C, 1 semana	1,1.10 ⁴	2,4.10 ³	1,1.10 ⁴					
- 18°C, 2 semanas	2,4.10 ³	2,1.10 ²	< 1,1.10 ⁴					
- 18°C, 3 semanas	4,6.10 ³	2,1.10 ²	< 1,1.10 ⁴					
- 18°C, 4 semanas	4,6.10 ³	< 1,1.10 ⁴	< 1,1.10 ⁴					
- 18°C, 8 semanas				2,4.10 ³	ausente em 1 ml	0,4.10 ¹	2,3.10 ²	ausente em 1 ml
- 18°C, 12 semanas								
- 40°C, 1 semana	4,6.10 ³	1,1.10 ⁴	1,1.10 ⁴					
- 40°C, 2 semanas	4,6.10 ³	1,1.10 ⁴	1,1.10 ⁴					
- 40°C, 3 semanas	1,1.10 ⁴	1,1.10 ⁴	2,4.10 ²					
- 40°C, 4 semanas	1,1.10 ⁴	< 1,1.10 ⁴	1,1.10 ⁴					
- 40°C, 8 semanas				1,1.10 ⁴	ausente em 1 ml	1,5.10 ²	1,5.10 ²	ausente em 1 ml
- 40°C, 12 semanas								

TABELA 15

Efeitos de diferentes temperaturas em °C e períodos de estocagem em semanas no congelador, sobre a contagem de *Streptococcus faecalis* por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Contagem bacteriana (microorganismo/ml)								
Colostros fresco	2,7.10 ⁶	1,9.10 ⁷	5,5.10 ⁸	6,0.10 ⁸	5,6.10 ²	7,0.10 ⁸	8,7.10 ⁷	ausente em 1 ml
								2,0.10 ⁷
Colostro congelado:								
- 10°C, 1 semana	1,6.10 ⁶	2,1.10 ⁷	5,0.10 ⁶					
- 10°C, 2 semanas	1,7.10 ⁶	1,5.10 ⁷	4,6.10 ⁶					
- 10°C, 3 semanas	8,0.10 ⁵	1,1.10 ⁷	2,4.10 ⁶					
- 10°C, 4 semanas	8,0.10 ⁵	1,3.10 ⁷	2,1.10 ⁶					
- 10°C, 8 semanas				1,2.10 ⁷	9,0.10 ¹	6,6.10 ⁶	7,2.10 ⁷	ausente em 1 ml
- 10°C, 12 semanas								3,2.10 ⁷
- 18°C, 1 semana	1,4.10 ⁶	2,1.10 ⁷	5,5.10 ⁶					
- 18°C, 2 semanas	2,7.10 ⁶	7,5.10 ⁷	5,0.10 ⁶					
- 18°C, 3 semanas	9,0.10 ⁵	1,1.10 ⁷	4,0.10 ⁶					
- 18°C, 4 semanas	9,0.10 ⁵	1,2.10 ⁷	3,3.10 ⁶					
- 18°C, 8 semanas				2,2.10 ⁷	5,0.10 ¹	3,5.10 ⁶	6,8.10 ⁷	ausente em 1 ml
- 18°C, 12 semanas								1,4.10 ⁷
- 40°C, 1 semanas	2,4.10 ⁶	2,7.10 ⁷	7,0.10 ⁶					
- 40°C, 2 semanas	2,6.10 ⁶	2,9.10 ⁷	5,4.10 ⁶					
- 40°C, 3 semanas	1,6.10 ⁶	1,2.10 ⁷	2,0.10 ⁶					
- 40°C, 4 semanas	2,2.10 ⁶	1,0.10 ⁷	3,4.10 ⁶					
- 40°C, 8 semanas				3,0.10 ⁷	5,0.10 ¹	4,0.10 ⁶	6,7.10 ⁷	ausente em 1 ml
- 40°C, 12 semanas								2,8.10 ⁷

TABELA 16

Efeitos de diferentes temperaturas em °C e períodos de estocagem em semanas no congelador, sobre a con-
tagem de *Staphylococcus aureus* por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S									
1*	2	3* +	4 *	5	6 +	7	8	9	
Contagem bacteriana (microorganismo/ml)									
Colostro fresco	6,0.10 ⁴	3,0.10 ⁵	1,1.10 ⁵	7,0.10 ³	3,0.10 ²	1,2.10 ³	3,9.10 ⁴	1,0.10 ²	4,2.10 ³
Colostro congelado:									
- 10°C, 1 semana	7,0.10 ³	8,0.10 ⁴	4,2.10 ⁴						
- 10°C, 2 semanas	2,2.10 ⁴	6,0.10 ⁴	1,3.10 ⁴						
- 10°C, 3 semanas	1,0.10 ³	3,0.10 ⁴	1,4.10 ⁴						
- 10°C, 4 semanas	3,5.10 ³	1,6.10 ⁴	1,0.10 ⁴						
- 10°C, 8 semanas				3,7.10 ³	1,0.10 ²	4,0.10 ¹	5,0.10 ³	ausente em 1 ml	2,2.10 ²
- 10°C, 12 semanas									
- 18°C, 1 semana	9,0.10 ²	1,9.10 ⁴	3,6.10 ⁴						
- 18°C, 2 semanas	2,0.10 ³	6,0.10 ⁴	1,2.10 ⁴						
- 18°C, 3 semanas	2,0.10 ³	2,0.10 ⁴	4,8.10 ⁴						
- 18°C, 4 semanas	1,8.10 ³	1,0.10 ⁴	1,0.10 ⁴						
- 18°C, 8 semanas				3,0.10 ³	2,0.10 ²	8,0.10 ¹	1,8.10 ³	6,0.10 ¹	4,3.10 ²
- 18°C, 12 semanas									
- 40°C, 1 semana	3,0.10 ⁴	8,0.10 ⁴	4,0.10 ³						
- 40°C, 2 semanas	3,0.10 ³	6,0.10 ⁴	3,0.10 ³						
- 40°C, 3 semanas	3,0.10 ³	2,0.10 ⁴	2,9.10 ³						
- 40°C, 4 semanas	3,2.10 ³	1,6.10 ⁴	5,0.10 ³						
- 40°C, 8 semanas				5,9.10 ³	2,0.10 ²	8,0.10 ¹	9,0.10 ³	ausente em 1 ml	2,4.10 ²
- 40°C, 12 semanas									

* Amostras apresentando colônias de *S. aureus* coagulase positiva.
+ Amostras apresentando colônias de *S. aureus* DNA'se termoresistente.

TABELA 17

Efeito da liofilização e de diferentes períodos de estocagem em semanas a -18°C, sobre a contagem de bactérias mesófilas totais por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Contagem bacteriana (microorganismo /ml)								
Colostro fresco	7,8.10 ⁶	4,1.10 ⁷	8,7.10 ⁶	1,3.10 ⁷	4,9.10 ³	6,4.10 ⁶	2,9.10 ⁷	1,9.10 ⁴ 6,0.10 ⁷
Colostro liofilizado reconstituído:								
4 semanas	2,0.10 ⁶	1,5.10 ⁷	7,4.10 ⁶					
8 semanas				1,0.10 ⁷	4,0.10 ²	2,4.10 ⁶		
12 semanas						5,6.10 ⁷	8,0.10 ²	2,2.10 ⁷

TABELA 18

Efeito da liofilização e de diferentes períodos de estocagem em semanas a -18°C, sobre a contagem de bactérias coliformes totais por ml de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

	A M O S T R A S								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Contagem bacteriana (Número Mais Provável/ml)								
Colostro fresco	1,1.10 ⁴	<1,1.10 ⁴	<1,1.10 ⁴	1,5.10 ³	ausente em 1 ml	9,3.10 ²	4,3.10 ²	ausente em 1 ml	2,4.10 ³
Colostro liofilizado reconstituído:									
4 semanas		4,6.10 ³	<1,1.10 ⁴	4,6.10 ³					
8 semanas				4,6.10 ³	ausente em 1 ml	0,9.10 ¹			
12 semanas						1,5.10 ²		ausente em 1 ml	2,3.10 ¹

TABELA 19

Efeito da liofilização e de diferentes períodos de estocagem em semanas a - 18°C, sobre a contagem de *Streptococcus faecalis* por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Contagem bacteriana (microorganismos/ml)									
Colostro fresco	2,7.10 ⁶	1,9.10 ⁷	5,5.10 ⁶	6,0.10 ⁶	5,6.10 ²	7,0.10 ⁶	8,7.10 ⁷	ausente em 1 ml	2,0.10 ⁷
Colostro liofilizado reconstituído:									
4 semanas	1,9.10 ⁶	6,0.10 ⁶	3,2.10 ⁶						
8 semanas				8,0.10 ⁶	3,0.10 ¹	2,1.10 ⁶			
12 semanas							7,5.10 ⁷	ausente em 1 ml	1,5.10 ⁷

TABELA 20

Efeito da liofilização e de diferentes períodos de estocagem em semanas a -18°C, sobre a contagem de *Staphylococcus aureus* por ml, de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

A M O S T R A S									
1*	2	3**	4*	5	6+	7	8	9	
Contagem bacteriana (microorganismo/ml)									
Colostro fresco	6,0.10 ⁴	3,0.10 ⁵	1,1.10 ⁵	7,0.10 ³	3,0.10 ²	1,2.10 ³	3,9.10 ⁴	1,0.10 ²	4,2.10 ³
Colostro liofilizado reconstituído:									
4 semanas	3,0.10 ⁴	4,0.10 ⁴	2,0.10 ⁴						
8 semanas				1,0.10 ³	1,0.10 ²	9,0.10 ¹			
12 semanas							3,4.10 ³	ausente em 1 ml	5,7.10 ²

* Amostras apresentando colônias de *S. aureus* coagulase positiva.
+ Amostras apresentando colônias de *S. aureus* DNA'se termoresistente.

aureus, sendo que as amostras 1, 2 e 4 também continham colônias de *S. aureus* coagulase positiva e as amostras 3 e 6 colônias de *S. aureus* DNA'se termodúrico, as quais persistiram no colostro liofilizado.

A pasteurização a 62,5°C, 30 minutos pode ser um método eficaz de esterilização do colostro, como indicado na Tabela 21.

Houve um decréscimo considerável na contagem de bactérias mesófilas totais das amostras cujo número de colônias foi superior a $1,5.10^4$ microorganismos por mililitro de colostro. Bactérias mesófilas totais foram eliminadas pela pasteurização, nas amostras cujo número inicial de colônias foi inferior a $1,4.10^4$ microorganismos por mililitro de colostro.

O processamento utilizado eliminou os microorganismos coliformes totais e *Streptococcus faecalis* presentes nas amostras frescas. O microorganismo *Staphylococcus aureus* demonstrou ser mais resistente a este tratamento quando em número superior a $3,0.10^3$ microorganismos por mililitro de colostro.

Efeito da pasteurização a 62,5°C, 30 minutos, sobre a flora microbiológica por ml de nove (9) amostras de colostro humano fresco.

Contagem bacteriana (microorganismo/ml)									
AMOSTRAS	Contagem de bactérias mesófilas totais			Coliformes totais NMP/ml			<i>Streptococcus faecalis</i>		
	AMOSTRA			AMOSTRA			AMOSTRA		
	fresca	pasteurizada	fresca	fresca	pasteurizada	fresca	pasteurizada	fresca	pasteurizada
								<i>Staphylococcus aureus</i>	
1	1,1.10 ⁴	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	3,2.10 ³	4,0.10 ²
2	1,7.10 ⁴	2,0.10 ¹	2,3.10 ¹	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	9,0.10 ³	4,0.10 ²
3	1,0.10 ⁴	ausente em 1 ml	0,4.10 ¹	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	2,8.10 ³ *	ausente em 1 ml
4	1,4.10 ⁴	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	3,0.10 ³ *	ausente em 1 ml
5	3,6.10 ³	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	5,0.10 ²	ausente em 1 ml
6	6,6.10 ³	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	2,8.10 ³	ausente em 1 ml
7	2,2.10 ⁴	8,0.10 ¹	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	5,0.10 ²	ausente em 1 ml
8	5,0.10 ⁴	1,1.10 ²	0,4.10 ¹	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	1,8.10 ³	ausente em 1 ml	2,2.10 ³	ausente em 1 ml
9	3,0.10 ⁴	1,0.10 ²	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	1,2.10 ³	ausente em 1 ml	ausente em 1 ml	2,0.10 ³	ausente em 1 ml

* Amostras apresentando colônias de *S. aureus* coagulase positiva.

3. Análises Imunoquímicas:

3.1. Purificação da IgA secretória.

A IgA secretória foi isolada do colostro humano, por uma combinação de cromatografia de troca iônica e filtração em gel, seguindo-se informações descritas em Newcomb et alii (1968).

Cromatografia em DEAE - Celulose

Uma amostra de 250 ml, foi cromatografada em uma coluna de DEAE - Celulose, equilibrada com tampão TRIS - HCl 0,01 M, pH 8,0. Nestas condições conseguiu-se uma saturação da coluna obtendo-se um volume de 480 ml que constituiu a primeira fração de proteínas. A seguir o tampão de equilíbrio foi substituído por soluções deste tampão adicionado de NaCl nas seguintes concentrações: 0,03 M, 0,05 M, 0,1 M e 2,0 M.

Como está demonstrado no perfil cromatográfico da Figura 04, foram eluídas cinco frações, respectivamente denominadas de P1, P2, P3, P4, P5, sendo utilizada neste trabalho apenas a fração P4.

Duas amostras de 150 ml desta fração eluída de NaCl 0,01 M, foram concentradas trinta vezes por ultrafiltração e liofilização.

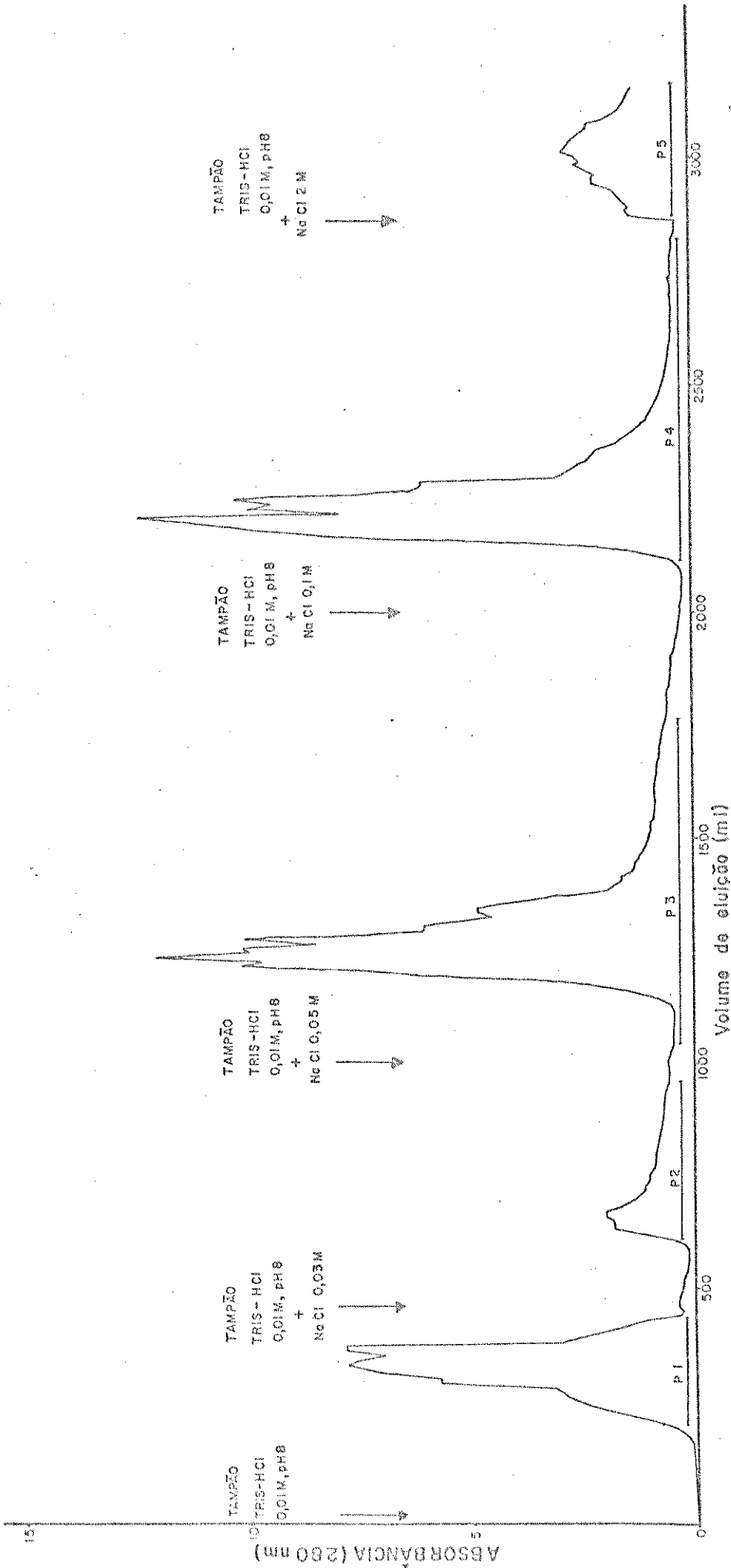


FIGURA 04 - Perfil cromatográfico do colostro humano em coluna de DEAE - Celulose.

Filtração em Sephadex G - 200

Amostras de 10 ml da fração P4 numa concentração proteica de 30 mg/ml foram cromatografadas em uma coluna de Sephadex G - 200. Como indicado no perfil cromatográfico (Figura 05), nestas condições foram isoladas cinco frações distintas, relacionadas de F_1 a F_5 . Na fração F2, de teor protéico mais elevado, estaria concentrada a IgA secretória, segundo as indicações da metodologia.

A fração F2 obtida de dois experimentos foi concentrada por liofilização, reconstituída em 7 ml de tampão e dialisada. A reciclagem deste material contendo 30 mg de proteína/ml, permitiu a eluição de três subfrações, como mostra o perfil cromatográfico (Figura 06), respectivamente FR_1 , FR_2 e FR_3 .

O rendimento em teor protéico das frações ricas em IgA secretória nos estágios da cromatografia em DEAE - celulose (P4) e filtração em sephadex (F2) com posterior reciclagem (FR_1 , FR_2 e FR_3), estão representados na Tabela 22. A porcentagem de recuperação ali estabelecida foi calculada em relação a fração P4 originada de 250 ml de colostro (diluído 1:2 em salina fisiológica) contendo 24 mg/ml de proteína. Esta quantidade excedeu a capacidade da coluna de DEAE - celulose, sendo pois incompatível efetuar a determinação a partir dos dados do colostro inicial.

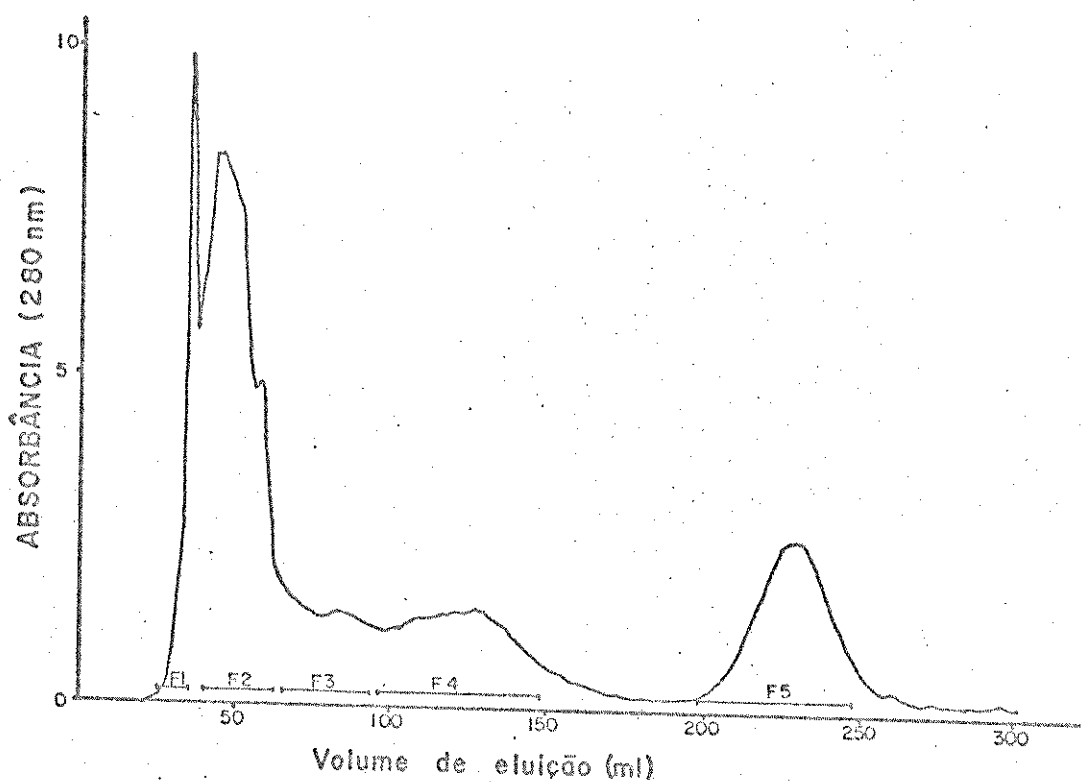


FIGURA 05 - Perfil cromatográfico da fração P₄ em coluna de Sephadex G - 200.

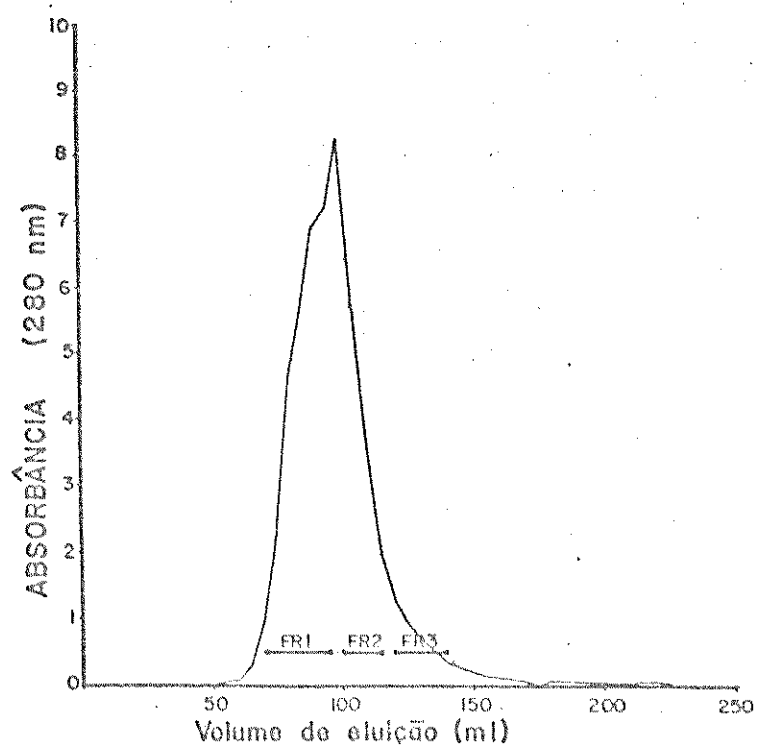


FIGURA 06 - Perfil cromatográfico da fração F₁ em coluna de Sephadex G - 200, em tampão salina tamponada com bo

TABELA 22

Resultado da determinação do teor de proteínas (mg/ml) e porcentagem de recuperação nos diversos estágios de purificação da IgA secretória.

Frações	Volume (ml)	Proteína (mg/ml)	Recupera ção (%)
P4 (fração 4 da cromatografia em DEAE - celulose)	20	30	100
F2 (fração 2 da filtração em Sephadex G - 200)	07	30	35
Frações da reciclagem de F2 em sephadex G - 200			
FR ₁	30	3,3	16,5
FR ₂	20	3,3	11,0
FR ₃	25	0,8	3,3

3.2. Análises Imunoeletroforéticas.

Imunoeletroforese simples

As Figuras 07 e 08 mostram o controle imunoeletroforético das frações obtidas nas diferentes etapas de purificação.

A fração P₄ analisada por imunoeletroforese simples, frente a um soro anti-IgA (obtido em carneiro) e anti-soro humano total, apresenta vários sistemas precipitantes. Todas as frações reagiram com o imunosoro anti-IgA. Embora a fração F₁ se apresentasse mais homogênea que a fração F₂, esta última continha a mais alta concentração protéica, sendo portanto considerada a fração onde estaria localizada a maior concentração de IgA.

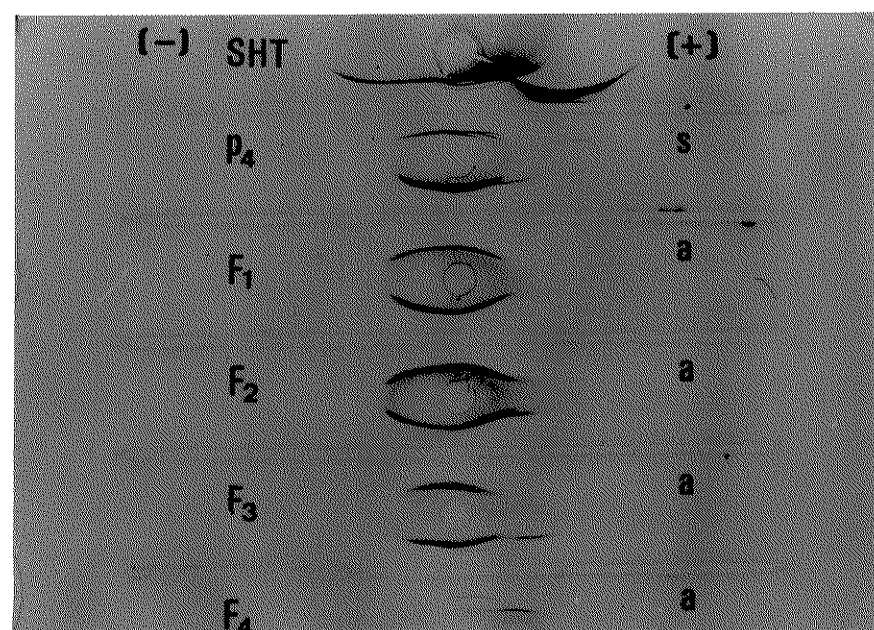


Figura 07 - Imunoeletroforese simples comparativa entre o SHT (Soro Humano Total) e as frações P₄, F₁, F₂, F₃ e F₄, frente aos imunosoros anti-SHT e anti-a (anti-IgA obtida em carneiro). Concentração protéica dos antígenos = 5 mg/ml.

Em concordância com estes dados as sub-frações FR_1 e FR_2 obtidas da reciclagem de F_2 (Figura 08) apresentou apenas um sistema aparentemente homogêneo. Os dados imunoeletroforéticos destas frações mostram um componente com mobilidade eletroforética relacionado com a IgA.

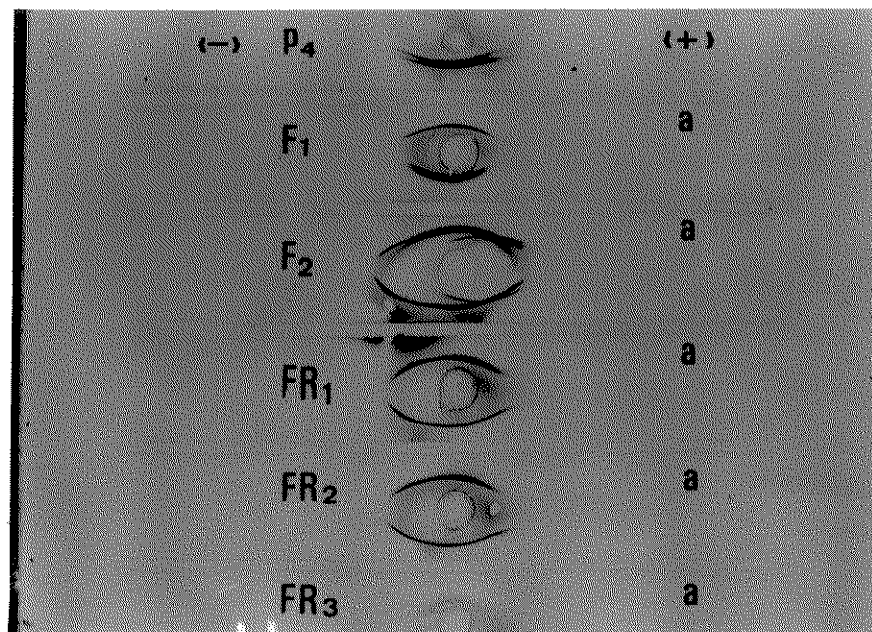


Figura 08 - Imunoeletroforese simples comparativa das frações P_4 , F_1 , F_2 , FR_1 , FR_2 , FR_3 , frente ao imunosoro anti- α (anti-IgA, obtida em carneiro). Concentração protéica dos antígenos = 5 mg/ml.

Imunoeletroforese cruzada

A fração P_4 isoladamente ou absorvida com soro anti- α (soro de cabra anti-IgA monoespecífico da Hyland) foi analisada pela técnica de imunoeletroforese cruzada, empregando-se o imunosoro α -IgA (anti-IgA), (Figura 9). Como pode-se observar, pelo menos três sistemas precipitantes estão presentes em P_4 , sendo o maior deles relacionado a IgA pois foi reduzido pela absorção.

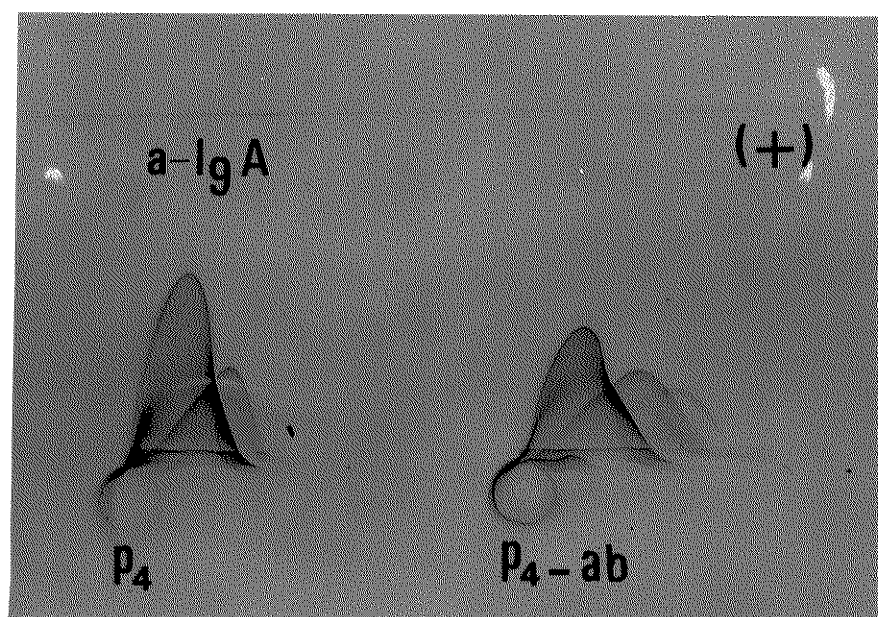


Figura 09 - Imunoeletroforese cruzada da fração P₄ (5 mg/ml) tratada com salina ou absorvida com soro anti- α (P₄ - ab), frente ao imunoroso anti-IgA diluído 1:30.

Experimento similar foi realizado com as frações FR_1 e FR_2 , submetidas ou não a absorção com imusoro anti- α . Como demonstrado na Figura 10, a fração FR_1 apresentou apenas um componente relacionado com a IgA.

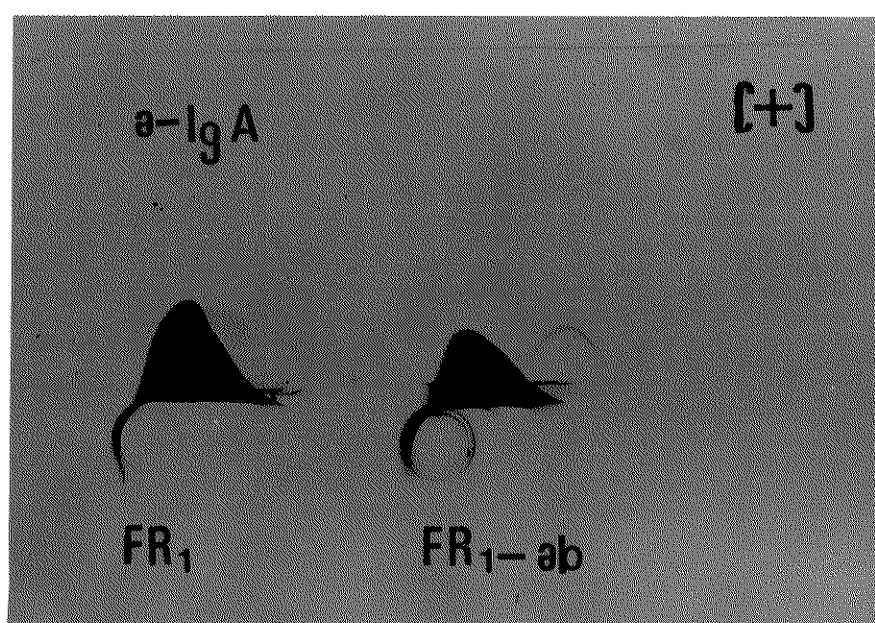


Figura 10 - Imunoeletroforese cruzada da fração FR_1 (3,5 mg/ml) tratada com salina ou absorvida com soro anti- α ($FR_1 - ab$), frente ao imusoro α -IgA (anti- α -IgA) diluído 1:30.

A análise da fração FR_2 (Figura 11) indicou a presença de um sistema predominante relacionado com a IgA, visualizando-se também um segundo componente em baixa concentração.

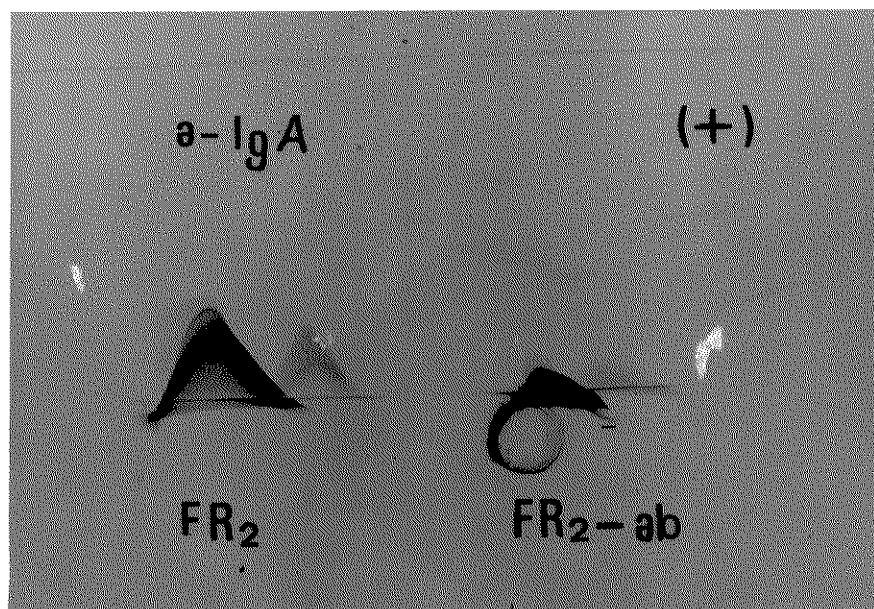


Figura 11 - Imunoeletroforese cruzada da fração FR_2 (3,5 mg/ml) tratada com salina ou absorvida com soro anti- α (FR_2 - ab), frente ao imunosoro α -IgA (anti-IgA) diluído 1:30.

Com base nestes resultados, a fração FR_1 foi utilizada como padrão de controle da IgA secretória do colostro humano, por constituir-se de componente aparentemente mais homogêneo.

3.3. Quantificação das Imunoglobulinas IgA, IgG e IgM.

As imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM), foram quantificadas em dezoito amostras de colostro fresco e após o processamento. Todas as determinações de imunoglobulinas foram efetuadas a partir de uma curva padrão, construída com os soros de referência em três concentrações conhecidas e aplicadas em cada placa.

A tabela 23 expressa a média aritmética das concentrações de IgA e IgM encontradas no colostro das doadoras do grupo 1 e 2. Não houverem diferenças significativas nos níveis de IgA e IgM entre os grupos de doadoras ao nível 5%.

Em todas as determinações de IgG, a área final alcançada pelo precipitado foi menor que o mais baixo valor do soro de referência, isto é 86 mg/100 ml. Pelo fato da IgG não poder ser estimada com uma precisão adequada através da curva padrão, seus níveis foram expressos como maior do que zero e menor do que 86 mg por 100 ml de colostro ($> 0 < 86$ mg/100 ml).

TABELA 23

Concentração de IgA e IgM em nove amostras de colostro fresco das doadoras do grupo 1 (previdenciárias) e 2 (indigentes).

Imunoglobulinas (mg/100 ml)		
	IgA	IgM
Grupo 1	1064,2 $\pm$ 419,06 (39,38%)	78,55 $\pm$ 44,30 (56,39%)
Grupo 2	737,11 $\pm$ 345,21 (46,83%)	74,11 $\pm$ 35,19 (47,48%)

Números entre parênteses indicam o coeficiente de variação.

O efeito da congelação sobre os níveis iniciais de IgA e IgM são indicados nas tabelas 24 e 25. Para as amostras analisadas após a estocagem no congelador por 1, 2, 3 ou 4 semanas, foram calculadas:

a) média aritmética dos níveis de imunoglobulinas entre as semanas;

- b) desvio padrão;
- c) coeficiente de variação.

Foram analisadas três amostras para cada período de estocagem. A significância estatística não pode ser demonstrada devido ao pequeno número de amostras.

A porcentagem de redução dos níveis de IgA em relação ao colostro fresco, variou de 0 a 15,8% nas primeiras semanas, de 0,9% a 31,6% após oito semanas e de 8,8% a 22,8% depois de doze semanas de estocagem no congelador.

Para IgM a porcentagem de redução em relação aos níveis de colostro fresco durante as primeiras quatro semanas variou desde 0 até 23,5%. Após oito semanas, de 4,6% a 17% e depois de doze semanas variou de 5,9 a 10,3%. Entre as diferentes temperaturas aparentemente não há diferenças significativas nos níveis de imunoglobulinas.

As porcentagens de decréscimos dos níveis de IgG não puderam ser calculadas, já que os níveis originais desta imunoglobulina estavam abaixo do valor do soro de referência. Mesmo assim os níveis de IgG foram avaliados nas amostras congeladas, pasteurizadas e liofilizadas.

A congelação a diversas temperaturas (-10°C , -18°C , -40°C) e períodos de estocagem (1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas), assim como a pasteurização e liofilização, parecem não destruir os níveis de IgG. Apesar das amostras processadas apresentarem redução no tamanho do anel de precipitação, houve reação típica da combinação antígeno-anticorpo nas placas de imunodifusão radial.

4260/Bc

TABELA 24

Efeitos de diferentes temperaturas em °C e períodos de estocagem em semanas no congelador, sobre a concentração inicial de IgA (mg/100ml) em nove (9) amostras de colostro humano fresco.

		Temperatura (°C)		
		- 10	- 18	- 40
Colostro fresco		Congelação (1, 2, 3 e 4 semanas)		
1120	1068 ± 65,48 (4,6) CV 6,13%	1050 ± 55,57 (6,3) 5,30%	1050 ± 55,57 (6,25) 5,30%	
552	531 ± 42 (3,8) CV 7,91%	552 ± 0 (0) 0%	531 ± 42 (3,8) 7,91%	
736	664 ± 87,15 (9,8) CV 13,12%	664 ± 87,15 (9,8) 13,12%	620 ± 83,01 (15,8) 13,39%	
		Congelação (8 semanas)		
666	636 (4,5)	636 (4,5)	636 (4,5)	
466	462 (0,9)	462 (0,9)	462 (0,9)	
1076	736 (31,6)	848 (21,2)	848 (21,2)	
		Congelação (12 semanas)		
1092	996 (6,8)	996 (6,8)	996 (6,8)	
936	840 (10,3)	840 (10,3)	840 (10,3)	
1980	1744 (11,92)	1680 (15,21)	1528 (22,8)	

Números entre parênteses indicam porcentagem de redução em relação ao colostro humano fresco.
CV - Coeficiente de Variação.

TABELA 25

Efeitos de diferentes temperaturas em °C e períodos de estocagem em semanas no congelador, sobre a concentração inicial de IgM (mg/100ml) em nove (9) amostras de colostro humano fresco.

		Temperatura (°C)	
		- 10	- 40
Colostro fresco		Congelamento (1, 2, 3 e 4 semanas)	
139	132,5 ± 7,5 (4,7)	132,5 ± 7,5 (4,7)	130,75 ± 6,18 (5,9)
CV	5,66%	5,66%	4,73%
44	44 ± 0 (0)	44 ± 0 (0)	42,75 ± 2,5 (2,8)
CV	0%	0%	5,85%
49	40,75 ± 6,5 (16,8)	40,75 ± 6,5 (16,8)	37,5 ± 7,5 (23,5)
CV	15,95%	15,95%	20,01%
		Congelamento (8 semanas)	
152	145 (4,6)	145 (4,6)	145 (4,6)
58	63 (7,4)	63 (7,4)	63 (7,4)
53	44 (17,0)	44 (17,0)	44 (17,0)
		Congelamento (12 semanas)	
84	79 (5,9)	79 (5,9)	79 (5,9)
22	>0 <22 (*)	>0 <22 (*)	>0 <22 (*)
107	96 (10,3)	96 (10,3)	96 (10,3)

C.V. - Coeficiente de variação.

Números entre parênteses significam porcentagem de redução em relação ao colostro humano fresco.
(*) - Não mensurável através da curva padrão.

A pasteurização resultou em média, 21% de redução nos níveis de IgA e 63,4% nos níveis de IgM. Sendo o coeficiente de variação relativamente alto. (Tabela 26).

As amostras liofilizadas apresentaram após a estocagem no congelador por quatro semanas, um decréscimo variando entre 0 e 12% e 5,0% a 36,7%, respectivamente nos níveis de IgA e IgM. Amostras, reconstituídas após oito semanas de estocagem, tiveram decréscimos variando entre 0,9% e 21,2% para IgA e 7,5% a 22,1% para IgM. O liofilizado após doze semanas de estocagem apresentou redução nos níveis de IgA, variando entre 18,9% a 22,2% e de IgM entre 6% e 10,3%. (Tabela 27).

4. Quantificação de Lisozima:

A atividade lítica do colostro foi avaliada em nove amostras de colostro fresco após sua pasteurização e liofilização.

As diluições das amostras foram padronizadas em análises preliminares para apresentar o mesmo nível de atividade que a lisozima padrão. (Figura 12 - Apêndice 4). As amostras congeladas não foram analisadas quanto a concentração de lisozima, devido a problemas nos congeladores comerciais.

A concentração de lisozima no colostro humano variou entre 6,37 e 50,06 mg/100 ml, apresentando uma média de 24,5 mg/100 ml $\pm$ 17,33 (Tabela 28).

Os resultados demonstraram que a pasteurização e liofilização ocasionaram altos decréscimos nos níveis de lisozima. Foi observado grande variação na estabilidade enzimática das nove amostras pasteurizadas e liofilizadas.

TABELA 26

Efeito da pasteurização a 62,5°C, 30 minutos, sobre os níveis de IgA e IgM (mg/100 ml) em nove (9) amostras de colostro humano fresco.

	Colostro fresco	Colostro pasteurizado	Percentual de redução
IgA	931,11 ± 215,16 (23,11%)	712,89 ± 233,87 (32,81%)	21,08 ± 10,88 (50,66%)
IgM	72,89 ± 34,60 (47,47%)	24,89 ± 11,35 (45,61%)	63,42 ± 12,07 (19,04%)

Números entre parênteses indicam o coeficiente de variação.

TABELA 27

Efeito de liofilização e diferentes períodos de estocagem em semanas a - 18°C, sobre os níveis de
 IgA e IgM (mg/100 ml) em nove (9) amostras de colostro humano fresco.

Imunoglobulinas (mg/100 ml)			
IgA		IgM	
Colostro fresco	Colostro liofilizado	Colostro fresco	Colostro liofilizado
Período de estocagem (4 semanas)			
1120	984 (12,1)	139	132 (5,0)
552	552 (0)	44	39 (11,4)
736	736 (0)	49	31 (36,7)
Período de estocagem (8 semanas)			
666	546 (18,0)	152	126 (17,1)
456	462 (0,9)	68	53 (22,1)
1076	848 (21,2)	53	49 (7,5)
Período de estocagem (12 semanas)			
1092	885 (18,9)	84	79 (6,0)
936	728 (22,2)	22	>0 < 22 (*)
1980	1592 (19,6)	107	96 (10,3)

Números entre parênteses indicam percentagem de redução em relação ao colostro humano fresco.
 (*) - Não mensurável através da curva padrão.

TABELA 28

Efeito da pasteurização a 62,5°C, 30 minutos e liofilização sobre os níveis de lisozima em mg/100 ml, em nove (9) amostras de colostro humano fresco.

Lisozima (mg/100 ml)		
Colostro fresco	Colostro pasteurizado	Colostro liofilizado
24,5 ± 17,33 (70,74%)	13,33 ± 10,28 (77,13%)	10,33 ± 6,49 (62,79%)
Porcentagem de redução em relação ao colostro fresco	46,14 ± 9,66 (20,95%)	54,70 ± 15,15 (27,69%)

Números entre parênteses indicam coeficiente de variação.

DISCUSSÃO

1. A Coleta do Leite.

O leite ou o colostro humano têm sido coletados para o uso em Bancos de Leite, por ordenha manual (Wyatt & Mata, 1969; Raptopoulou Gigi et alii, 1977), através da bomba de sucção manual (Duncombe, 1975; Liebhaber et alii, 1978), ou por bomba de sucção a vácuo (McEnery & Chattopadhyay, 1978).

Em nosso trabalho padronizamos o método da coleta do colostro por bomba de sucção a vácuo-regulagem manual. Em pesquisa prévia, constatamos que as doadoras se queixavam de dor nos seios quando utilizávamos a bomba de sucção manual, manifestando em geral a preferência pela bomba de sucção a vácuo. Segundo Applebaum (1970), as bombas manuais provocam o aumento da dor, lesando o sensível tecido congestionado do seio e do mamilo. A utilização da bomba de sucção a vácuo, permitiu-nos a melhor regulagem da velocidade de extração do material conforme a vontade da doadora. Além disso, observamos por ocasião da coleta com a bomba de sucção manual, que havia perdas no volume do material quando este era transferido da bomba para um recipiente, o que pode ser evitado com o uso da bomba de sucção a vácuo. Nesta última, o material flui diretamente do seio para o recipiente de armazenamento, através de uma mangueira, sendo todos os dispositivos acoplados no mesmo

aparelho.

Quanto a quantidade de material extraído pela coleta com os dois tipos de bomba, constatamos com antecipação que o volume obtido era maior e o colostro fluia mais rapidamente dos seios, quando utilizávamos a bomba de sucção a vácuo - regulagem manual.

Apesar da diferença entre o volume de colostro secretado pelas doadoras do grupo 1 (previdenciárias) e 2 (indigenas) não serem estatisticamente significantes, tivemos mais facilidade em obter volumes maiores das nutrizes do grupo 1. As doadoras do grupo 1 (previdenciárias), talvez pertenciam a uma categoria sócio-econômica mais elevada, quando comparadas as indigentes do grupo 2. Também é importante ressaltar que a Maternidade de Campinas onde estavam internadas as parturientes do grupo 1, oferecia uma assistência hospitalar de nível mais elevado, resultando em maior conforto, além da alimentação ser mais adequada. É válido lembrar que a maternidade da Santa Casa funcionava em sistema de alojamento conjunto, propiciando a mãe maior oportunidade de amamentar seu filho a qualquer hora que desejasse, o que poderia estar relacionado com uma menor obtenção de volume durante as coletas que lá realizamos.

Na Maternidade de Campinas, as coletas foram efetuadas em parturientes ocupando quartos sem alojamento conjunto, cujos bebês permaneciam nos berçários e eram levados para mamar uma ou duas vezes pela manhã. Este pode ter sido um dos fatores pelo qual o leite fluia em maior quantidade neste grupo de doadoras.

Pelo fato das doadoras do grupo 1 pertencerem a uma categoria sócio-econômica mais elevada do que as do grupo 2, considerou-se de forma empírica que eram mais bem nutridas, apesar de não terem sido utilizadas as medidas recomendadas.

No entanto, as diferenças entre as concentrações protéicas do colostro nos dois grupos não foram estatisticamente significantes.

Vários trabalhos confirmam a idéia de que a quantidade e a qualidade da proteína do leite coletado de mulheres de baixo padrão sócio-econômico não difere das mulheres bem nutridas (Jelliffe & Jelliffe, 1979, Wortington, 1980).

Quanto a concentração de proteínas no colostro, a média mostrou-se similar à encontrada por Heyndrickx (1962) & Macy (1949).

Os dados da Tabela 06 nos chamaram à atenção para o fato de que obtínhamos maior volume de colostro durante a coleta, em doadoras cujo período de lactação era superior a 24 horas após o parto.

Poderíamos supor então, a existência de uma correlação entre o volume de colostro ou leite humano e o período de lactação das nutrizes.

O aumento da produção do leite materno com o progresso no período da lactação foi relatado por Jelliffe & Jelliffe (1979), Ogra & Ogra (1978), Reddy et alii (1977).

Newton & Newton, 1962 (citado por Applebaum, 1970) descobriram por meio de experimentos, que a liberação do leite pode ser influenciada por fatores psicológicos tais como medo, ansiedade, fadiga e dor.

De fato, verificamos que geralmente as doadoras que produziram maior volume de colostro durante a coleta, tiveram uma gravidez sem problemas, realizaram parto normal e não apresentaram patologia na mama após o parto (Tabelas 07 e 08).

Problemas nos mamilos tais como fissuras ou retração dificultaram a coleta, resultando portanto em menor volume obtido (Tabela 07). Nestes casos, ressalta-se mais uma vez a importância da existência de um Banco de Leite, cujo pessoal poderia orientar as mães sobre o preparo dos seios para a amamentação, desde o pré-natal. Dentre as orientações Applebaum (1970), cita o ensinamento das técnicas de massagens dos seios e expressão manual principalmente para as mulheres que possuem o mamilo retraído ou do tipo pseudo-invertido.

Em nossas coletas, muitas vezes, nos deparamos com doadoras que apesar de estarem "cheias" de leite não podiam amamentar, pois não havia liberação. Segundo Applebaum, (1970), uma mãe saudável pode produzir mais leite do que as necessidades calóricas diárias do bebê.

Quando a produção do leite é muito maior que a drenagem, principalmente durante o período hospitalar, a mãe poderá retirar o seu leite por expressão manual ou com o auxílio da bomba. Assim, além de ser ajudada a diminuir a tensão do leite, a mãe poderá doar o leite para bebês prematuros ou precocemente privados do aleitamento natural materno.

Os estímulos de sucção artificial, na forma de extração manual ou bomba de seio, têm sido repetidamente recomendados com a finalidade de aumentar ou manter a produção do leite na ausência da criança (Wörthington, 1980).

Stewart & Pratt, 1941 (citado por Macy, 1949) demonstraram que a lactação pode ser mantida por mais de um ano, mesmo com a ausência do reflexo de sucção do bebê, se a mãe expressar manualmente o leite e administrá-lo por mamadeira.

A utilização da mamadeira só é recomendada quando a mãe possui mamilos pseudo-invertidos e a criança não consegue sugar (Macy, 1949).

Em casos de crianças prematuras, com anomalias cardíacas e ainda com fenda palatina, o leite deve ser administrado com uma colher de chá e/ou conta-gotas, até que seja desenvolvida satisfatoriamente o processo de sucção (Taylor & Worthington, 1980). Nestes casos os Autores enfatizam mais uma vez a eficácia de um Banco de Leite, onde este leite deverá ficar armazenado adequadamente e usado quando necessário.

O uso da mamadeira para esta finalidade não é recomendado, pois uma vez que o bebê se esforça menos para sugar o bico de borracha, os músculos faciais se enfraquecem e desaparece o desejo de sugar o seio (Davis & Sear, 1948, citado por Applebaum, 1970).

Ainda com relação aos problemas que possam aparecer nos mamilos, é conveniente comentar sobre a higiene dos seios, antes da coleta. Em nosso trabalho, as doadoras foram instruídas para lavar as mãos com água e sabão e fazer assepsia dos mamilos somente com água boricada. Segundo a literatura, a utilização de sabão desidrata a pele e remove o lubrificante natural da auréola. Por isso é recomendado água pura para a higiene a fim de proteger o sensível epitélio mamilar (Applebaum, 1970, Taylor & Worthington, 1980). Newton, 1952 (citado

por Applebaum, 1970), descobriu que os mamilos doloridos e rachados podem ser devidos ao uso de sabão durante o banho.

Muito significativa foi a relação encontrada entre o volume de leite secretado e o tipo de parto realizado pelas parturientes. As nutrizes que haviam se submetido ao parto normal liberaram maior volume de leite durante a coleta, do que âquelas submetidas à cesariana. Applebaum (1970), considera que o excesso de anestesia geralmente utilizada nos partos por cesariana, causa languidez no bebê prejudicando o seu reflexo de sucção ao seio. A sucção deficiente resulta em produção e liberação insuficiente de leite, pois estão em função da estimulação do mamilo.

Além disso, o stress e a dor causados pela cesariana, possivelmente foram fatores psicológicos influentes sobre o reflexo de liberação do leite.

As doadoras que apresentaram complicações após o parto, sentiam dificuldade durante as coletas, pois estavam impossibilitadas de se movimentar ou sentar corretamente. Apesar da postura da doadora durante a coleta ser fator importante, as complicações que apresentaram não influenciaram muito sobre o volume de leite liberado.

Outro aspecto discutido por alguns autores é de que nas mães primíparas o leite é liberado posteriormente às multíparas. Nossos resultados demonstraram que das mães multíparas obtínhamos volume maior de colostro do que das primíparas.

Consideramos estes, os fatores que mais influenciaram no rendimento do material coletado.

Parece evidente que haja uma interação de todos estes

aspectos sobre a liberação do leite, ficando clara a idéia de que o estado emocional da mãe é extremamente importante.

Alguns autores ainda relacionam a idade materna com o volume de leite produzido. Segundo Stewart & Pratt, 1941 (citado por Macy, 1949), o aumento da idade materna prejudica a produção do leite, o que não foi verificado em nossas coletas. Outras variáveis como as doenças durante a gravidez e o uso de drogas (corticóides e antibióticos) por parte das doadoras, parecem não interferir sobre o volume de colostro obtido durante a coleta.

É importante ressaltar que apesar de válidos, torna-se difícil discutir estes resultados, já que não padronizamos o tempo de coleta para cada doadora, o que implicaria em maior tempo gasto durante as coletas, acarretando conseqüentes problemas para os trabalhos de rotina das maternidades. Apesar disto estabelecemos o horário entre 7:00 e 11:00 horas da manhã para a realização das coletas de cada grupo.

Os recipientes de vidro utilizados para a coleta e armazenamento do colostro são contraindicados por Pitt (1976). O autor considera que os macrófagos do leite humano se aderem facilmente às paredes do vidro, apesar desta perda de células ser considerada benéfica para os bebês prematuros e imunodeficientes que recebem o leite de doadoras (Goldman, 1977).

2. Qualidade Microbiológica das Amostras Frescas e Processadas.

2.1. Amostras Frescas

A coleta, processamento e estocagem do leite ou colos

tro humano, susceptível de ser administrado ao recém-nascido prematuro, tem se constituído em uma das principais preocupações dos pesquisadores deste assunto. É desejável que o leite humano coletado possua qualidade microbiológica aceitável, a fim de assegurar proteção ao recém-nascido carente.

Alguns autores consideram que a maioria dos microorganismos presentes no leite humano, provém das mãos, mamilos e recipientes de armazenamento (Torres-Goitia et alii, 1979, Williamson et alii 1978, Wyatt & Mata, 1969). Aos prováveis veículos de contaminação já citados pelos Autores, nós incluiríamos os métodos utilizados para esterilização dos dispositivos da bomba ordenhadeira e o local de coleta.

Durante as coletas, o risco de contaminação por mãos, mamilos e recipientes de armazenamento foi bastante pequeno, pois as doadoras foram instruídas e sob nossa supervisão faziam a higiene das mãos e mamilos, sendo inclusive prevenidas para não tocar nos mamilos e falar. Os mesmos princípios de higiene foram seguidos por nós, que realizamos as coletas.

Quanto aos recipientes de armazenamento, estes foram previamente esterilizados em estufa a 170°C, por duas horas. Nas duas maternidades em que se processaram as coletas, estes princípios foram igualmente cumpridos, contudo variou o método de esterilização dos dispositivos da bomba e o local de coleta.

O método utilizado para esterilização dos dispositivos da bomba ordenhadeira das doadoras do grupo I (Maternidade de Campinas), foi a solução de "Milton", que além de não

ser tão eficaz na destruição de microorganismos quanto a autoclave (121°C, 15 minutos), apresenta o inconveniente de ser preparada erroneamente. Tal fato ocorreu, pois o pessoal responsável pelo preparo desta solução, não seguiu as orientações dos fabricantes, que recomendam o repouso do material no referido desinfetante, durante duas horas no mínimo.

Os dispositivos da bomba ordenhadeira das doadoras do grupo 2 (Maternidade da Santa Casa) foram esterilizados em autoclave a 121°C, 15 minutos.

As amostras de colostro das doadoras do grupo 1, apresentaram a média de bactérias mesófilas totais ($1,84.10^7 \pm 2,06.10^7$ microorganismos/ml) bem mais alta do que a contagem média do grupo 2 ($1,2.10^4 \pm 0,64.10^4$ microorganismos/ml).

As amostras do grupo 1, também estavam mais contaminadas por Coliformes Totais, *Streptococcus faecalis* e *Staphylo*coccus aureus coagulase positiva e DNA'se termoresistente (Tabela 12).

De certa maneira os dispositivos da bomba ordenhadeira das doadoras do grupo 1, foram um dos veículos de contaminação destas amostras. Resíduos do leite ordenhado em coletas anteriores não foram convenientemente retirados daqueles dispositivos pelo método de desinfecção utilizado. Segundo Liebhaber et alii (1978), a secção de borracha do dispositivo da bomba pode conter mais de um milhão de bactérias/ml.

Neste sentido é de importância ressaltar que as bombas manuais mais uma vez não são aconselháveis para a coleta, pois facilmente são destruídas durante a esterelização em autoclave (121°C, 15 minutos) ou em estufa (170°C, 2 horas), por

constituírem-se de uma parte de borracha não muito resistente. Desta maneira, o risco de contaminação aumentaria através do contato do líquido com a superfície do aparelho, que poderia conter microorganismos que não foram eficientemente eliminados pelos métodos químicos de desinfecção.

A expressão manual do leite também poderia se constituir em método de coleta não muito adequado, já que as mãos se não forem bem limpas, poderão ser perigosos veículos de contaminação.

Quando os métodos utilizados para esterilização das bombas ordenhadeiras não forem adequados, o leite humano pode ser coletado por expressão manual, o que no caso resulta em menor contaminação bacteriana (Liebhaber et alii, 1978). Neste sentido, foi demonstrado que o leite de uma determinada mãe, tem propriedades bacteriostáticas e bactericidas suficientes para protegê-lo da proliferação dos germes de sua própria flora microbiana, porém nem sempre é capaz de atuar contra germes contaminantes alheios a ela, como dos recipientes e manipuladores (Torres-Goitia et alii, 1978).

O local de coleta das amostras pode ter sido outro fator influente sobre a flora microbiana do colostro fresco.

A maior parte das coletas de colostro (sete amostras) das doadoras do grupo 1 (Maternidade de Campinas) foram realizadas no quarto das parturientes, sendo que somente duas coletas foram efetuadas na sala de amamentação. A coleta nos quartos apresentou a vantagem de oferecer maior conforto às doadoras, pois não precisavam movimentar-se até a sala de amamentação ou Banco de Leite. Como desvantagem, podemos citar o incove

niente do transporte da bomba ordenhadeira de um quarto a outro, com as amostras já coletadas. Este deslocamento pode aumentar a contaminação do material, devido à intensa movimentação das parturientes (quartos de 4 a 5 leitos) e pessoal hospitalar.

O risco de contaminação pelo ar ou pessoas estranhas presentes durante as coletas na maternidade das doadoras do grupo 2 (Maternidade da Santa Casa), foi bem menor, pois a ordenha foi efetuada na sala de amamentação, não havendo a necessidade do transporte da bomba de um local para outro. A importância da coleta ser realizada na sala de amamentação ou em um Banco de Leite, foi evidenciada nas duas amostras das doadoras do grupo 1, coletadas na sala de amamentação. Estas amostras foram bem menos contaminadas e apresentaram contagem de bactérias mesófilas totais entre $3,6.10^3$ e $5,0.10^4$ microorganismos por mililitro, ao contrário das sete amostras restantes do mesmo grupo de doadoras.

A contagem média de bactérias mesófilas totais das amostras do grupo 1 ($1,84.10^7 \pm 2,06.10^7$ microorganismos/ml) mostrou-se compatível às encontradas nos trabalhos de Hack et alii, 1975, McEnery & Chattopadhyay, 1978, Torres-Goitia et alii, 1979. Uma contagem média de bactérias mesófilas totais, mais baixa, como a das amostras das doadoras do grupo 2 ($1,2.10^4 \pm 0,64.10^4$ microorganismos/ml) foi também verificada por Hack et alii (1975), Liebhaber et alii (1978), Lucas & Roberts (1979), Williamson et alii (1978), Wyatt & Mata (1969). Estes resultados nos demonstraram a importância de uma coleta ser realizada sob rigorosa assepsia. O pessoal responsável pelo Banco de Leite de uma maternidade deve estabelecer normas

de higiene dos seios e mãos das doadoras e manipuladores. Além disso é recomendável o uso de guarda-pó apropriado e limpo. Técnicas corretas de esterilização dos recipientes e dispositivos das bombas devem ser adotadas. O local da coleta é fato importante e se possível deve-se evitar a ordenha nos quartos das doadoras.

Os dados de várias pesquisas indicaram que, coletas realizadas sob cuidados higiênicos, resultavam em amostras com contagem média de $1,0.10^4$ colônias por mililitro (Williamson et alii, 1978) ou de $1,0.10^2$ colônias por mililitro (Hack et alii, 1975). Quando as normas de higiene não eram bem obedecidas, as amostras resultavam em alta contagem bacteriana com a presença de enterobactérias, *Acinetobacter*, *Alkaligenes*, *Moraxela* (Williamson et alii, 1978), *Escherichia coli* (Lucas & Roberts, 1979, McEnery & Chattopadhyay, 1978, Williamson et alii, 1970).

Mulheres sujeitas à alta incidência de doenças infecciosas, com inadequados hábitos de higiene pessoal ou vivendo em lugares de condição sanitária precária, podem apresentar amostras de leite bastante contaminadas com microorganismos provenientes dos ductos mamilares (Wyatt & Mata, 1969). Então, seria de se esperar que o colostro das doadoras do grupo 2 (indigentes) estivesse bastante contaminado. Seus hábitos de higiene pessoal e condições sanitárias da maternidade em que estavam internadas, eram bem inferiores aos das doadoras do grupo 1 (previdenciárias) e respectiva maternidade. No entanto, as amostras das doadoras do grupo 2 estavam menos contaminadas do que as do grupo 1.

As bactérias encontradas no leite humano podem representar uma interação da flora bacteriana, passando entre o peito da mãe e a boca do bebê (Wyatt e Mata, 1969), incluindo-se *Streptococcus* orais da criança (Williamson et alii, 1978) e *Staphylococcus* dos mamilos das mães (Gomes et alii, 1972).

Os recém-nascidos de berçário, como foi o caso dos bebês das doadoras do grupo 1 (Maternidade de Campinas) também se infectam através da mamada, podendo levar a contaminação aos demais recém-nascidos, (Gomes et alii, 1972), que infectam suas mães na hora da mamada, resultando em amostras de leite bastante contaminadas.

As amostras de colostro das doadoras do grupo 1, cujos bebês permaneciam no berçário estavam realmente bastante contaminadas por *Streptococcus faecalis*, cuja contagem média foi de $7,6.10^6 \pm 7,3.10^6$ microorganismos por mililitro. Estas amostras apresentaram-se contaminadas por uma média de $5,8.10^4 \pm 9,8.10^4$ *Staphylococcus aureus* por mililitro.

Se o fator influente da contaminação fosse principalmente a passagem destes microorganismos de um bebê para outro, e conseqüentemente para o colostro de suas mães, as amostras das doadoras do grupo 2 deveriam estar mais contaminadas. Estas doadoras permaneciam internadas com seus bebês (alojamento conjunto), e devido aos quartos possuírem de 8 a 10 leitos, os recém-nascidos mamavam em outras mães que não as suas. No entanto, a presença de *Streptococcus faecalis* foi constatada em apenas uma amostra, e apesar do *Staphylococcus aureus* ($2,5.10^3 \pm 2,8.10^3$ microorganismos/ml) estar presente em todas as amostras a contagem foi bem inferior a encontrada nas amostras de colostro das doadoras do grupo 1 ($5,84.10^4 \pm 9,78.10^4$

microorganismos/ml).

Tem sido demonstrado que o risco que o recém-nascido corre, no berçário, de se colonizar com germes gram negativos, potencialmente mais patogênicos, é muito maior do que se estivesse localizado em alojamento conjunto (Segre et alii, 1981). Tais veículos de contaminação podem ser evitados no sistema de alojamento conjunto, pois os bebês permanecem sob a constante vigilância das mães.

Staphylococcus aureus foi o único microorganismo presente em todas as amostras, sendo que os coliformes totais e *Streptococcus faecalis* obtiveram respectivamente o segundo e terceiro lugar em frequência. (Tabela 12).

Pesquisas demonstraram que o veículo deste microorganismo pode ser a própria pele materna, mesmo que as doadoras adotem durante a coleta, boas normas de higiene dos seios e mãos (Hack et alii, 1975, Torres-Goitia et alii, 1979).

Outros autores também relataram a predominância de *Staphylococcus* no leite humano, sendo constatado que a maioria das colônias apresentavam-se coagulase e DNA'se negativa (Lucas & Roberts, 1979, Williamson et alii, 1978, Wyatt & Mata 1969). Os mesmos resultados foram por nós obtidos, pois das dezoito amostras analisadas somente cinco apresentaram colônias de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e duas *Staphylococcus aureus* DNA'se termoresistente. Estes microorganismos podem ter sido provenientes de fissuras mamilares de algumas mães que doaram seu leite.

Segundo Hack et alii (1975), o leite humano contendo microorganismos patogênicos não representa perigo de infecção pa

ra o bebê, desde que seja utilizado até 24 horas após a coleta, possivelmente devido as suas propriedades bacteriostáticas e bactericidas (Torres-Goitia et alii, 1979). Além disso, o leite humano possui o fator antiestafilocócico, que exerce proteção contra as infecções causadas por estafilococo patogênico (György, 1971).

A qualidade microbiológica do leite poderia ser melho-rada, se descartássemos os primeiros cinco e dez mililitros de colostro. Tal procedimento foi utilizado em outras pesquisas , provocando um decréscimo de dez a cem vezes no número total de colônias (Williamson et alii, 1978). Geralmente os Bancos de Leite possuem escassa quantidade de colostro para atender os prematuros e outras crianças de alto risco, e o desperdício dos primeiros cinco a dez mililitros de colostro de cada parturiente, podem fazer falta no volume total. Como foi demonstrado em nossas coletas, muitas parturientes não conseguem coletar volumes maiores de cinco ou dez mililitros de colostro. (Ques-tionários-Apêndices 2 e 3).

A contaminação excessiva do leite humano pode ocasionar perdas dos seus valores nutricionais e imunológicos (William-son et alii, 1978).

Microorganismos tais como *Staphylococcus aureus* podem produzir lipases, cuja ação se relaciona com a liberação de ácidos graxos livres em laticíneos (Law et alii, 1976, citado por Lucas & Roberts, 1979). Foi verificado in vitro, que a conjugação da bilirrubina pode ser inibida pelo leite humano contendo altas concentrações de ácidos graxos livres (Foliot et alii, 1976), o que ocasiona icterícia no recém-nascido (Lucas

& Roberts, 1979). A presença de *Streptococcus faecalis* em contagens muito altas, como as encontradas nas amostras do grupo 1, podem ser tóxicas ao recém-nascido (Lucas & Roberts, 1979). *Streptococcus faecalis* e *E. coli* produzem descarboxilases que convertem aminoácidos livres em aminas, tais como tiramina e triptamina (Dahlberg & Kosikowski, 1948, citado por Lucas & Roberts, 1979).

Microorganismos coliformes fecais não foram encontrados nas amostras de colostro analisadas.

2.2. Amostras Congeladas

Atualmente, os Bancos de Leite, utilizam refrigeradores ou congeladores comerciais para a conservação do leite humano que não é usado imediatamente após a coleta. Refrigeradores e congeladores apresentam vantagens práticas para a estocagem do leite humano, porém certos cuidados devem ser observados para que a flora bacteriana presente no produto fresco não se multiplique. Nesta pesquisa, as amostras foram congeladas lentamente em congeladores comerciais e descongeladas rapidamente em banho-maria (44,5°C).

Procurou-se reproduzir a forma mais simples de congelação e descongelação, que poderia ser aplicada em um Banco de Leite Hospitalar. O uso do método rápido de congelação de alimentos, apesar de apresentar certas vantagens, exigiria na prática do dia-a-dia, disponibilidade do refrigerante e maior mão de obra operante. Muitas vezes, o método de congelação lenta é indicado, pois certas bactérias são destruídas mais rapida

mente entre -1°C e -5°C , no entanto, ocorrem maiores prejuízos nutricionais (Haines, 1958, citado por Frazier, 1962).

O número inicial de microorganismos presentes nas amostras frescas, determinou a eficácia da congelação sobre a flora bacteriana das respectivas amostras congeladas. A congelação inibiu a proliferação dos microorganismos inicialmente presentes nas amostras em que a contagem inicial apresentou-se acima de 10^4 microorganismos por mililitro, porém não diminuiu o número dos mesmos.

As diversas temperaturas de congelação (-10°C , -18°C e -40°C) e períodos de estocagem (1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas) não apresentaram diferenças entre si, quanto a eficácia na eliminação de microorganismos. A amostra número 4 apresentou aumento de microorganismos depois de estocada no congelador por 8 semanas. Este aumento pode ter sido resultado de descongelação das amostras. Durante os dois primeiros meses da pesquisa houve freqüentes cortes de força (energia), o que resultou em descongelação de algumas amostras, as quais foram abandonadas. Novas amostras foram coletas, analisadas e congeladas, porém provavelmente ocorreram outros cortes de energia durante a noite, não percebidos por nós. Lucas e Smith, (1979), observaram que a conservação do leite em refrigeradores domésticos resultavam em contagens bacterianas muito altas, principalmente durante o verão, pois havia periódicas quedas de energia.

As amostras congeladas cujo número inicial de colônias esteve abaixo de 10^4 microorganismos por mililitro, apresentaram algum decréscimo na contagem bacteriana de mesófilos totais, coliformes totais, *Streptococcus faecalis* e *Staphylococ*

cus aureus. Estes dados estão de acordo com as pesquisas de Hack et alii (1975) e Torres-Goitia et alii (1979) nas quais, as amostras de leite foram mantidas refrigeradas durante 48 e 72 horas sem que aumentassem a contagem bacteriana ou houvesse desenvolvimento de microorganismos.

A congelação do leite humano é contraíndicada por alguns autores que preferem a sua refrigeração, baseados em teorias que aquele método de conservação poderia alterar seus componentes antimicrobianos (Hack et alii, 1975). Contudo foi demonstrado por Gibbs em 1977 (citado por Lucas & Smith, 1979) que estas alterações foram relacionadas ao tempo de estocagem do leite no congelador.

Durante a refrigeração do leite a 4°C, poderá haver reprodução de microorganismos saprofíticos (Lucas e Roberts, 1979), ou das bactérias que toleram temperaturas próximas à congelação, como *Pseudomonas* e *Aerobacter* (Frazier, 1962). A congelação não é considerada um método de destruição de microorganismos, podendo algumas bactérias aumentarem seu número durante o armazenamento de -4°C a -7°C (Frazier, 1962).

Entre as bactérias que se reproduzem a esta temperatura, o Autor cita o *Micrococcus*, considerado em muitos trabalhos, como microorganismo predominante da flora bacteriana do leite humano fresco.

Em conformidade com estes dados e de acordo com nossos resultados, o leite humano poderia ser conservado no congelador até 12 semanas a temperaturas abaixo de -10°C, sem que houvesse aumento da flora bacteriana. Dentro desta consideração de veria se levar em conta, a ineficiência dos congeladores, durante os cortes de luz.

Segundo Frazier (1962), a congelação dos alimentos crus não detém indefinidamente as reações químicas, a ação enzimática e o crescimento bacteriano.

Portanto, o leite humano cru, não deveria ser estocado no congelador por período muito prolongado, principalmente se a contagem bacteriana inicial fosse relativamente alta.

Williamson et alii (1978), associaram ao uso do leite humano conservado a -18°C , por duas ou três semanas, o aparecimento de icterícia em recém-nascidos alimentados com este leite. A análise do leite após a estocagem mostrou um aumento na taxa de ácidos graxos livres os quais como já citado, inibiram "in vitro" a conjugação da bilirrubina, causando a icterícia (Foliot et alii, 1976). Contudo foi demonstrado "in vitro" que este efeito inibitório estaria relacionado ao uso de leite humano refrigerado ($+4^{\circ}\text{C}$) e não ao congelado (-18°C) (Foliot et alii, 1976).

As amostras na pesquisa de Williamson et alii (1978), foram coletadas nas casas das doadoras, sendo estocadas previamente em refrigeradores por 24 horas antes de serem transportadas ao hospital e então congeladas.

Foliot et alii (1976), também demonstraram que o aquecimento do leite a 56°C , antes de sua refrigeração, destruía o efeito inibitório sobre a bilirrubina. Ao contrário acontecendo quando o mesmo tratamento era aplicado a amostras de leite previamente refrigeradas a 4°C .

2.3. Amostras Liofilizadas

As amostras liofilizadas e analisadas após 4, 8 ou 12 semanas de estocagem a -18°C , resultaram em contagens bacterianas similares às correspondentes amostras frescas. Assim como no processo de congelação, o número inicial de colônias de microorganismos nas amostras frescas determinou a eficácia da liofilização em manter ou diminuir estes números, no colostro reidratado.

A liofilização é um processo de desidratação muito utilizado na indústria farmacêutica e de alimentos, apresentando a vantagem de minimizar durante o processamento todas as reações enzimáticas, biológicas e microbiológicas, porque encontra-se congelada quase toda a água do produto que se desidrata (Benlloch e Otamendi, 1967).

Poderá haver um risco de contaminação microbiana durante o processamento, através de equipamentos sujos, (Frazier, 1962) ou na reidratação com líquido não esterilizado. Como este processo é realizado a temperaturas baixas e na ausência de ar atmosférico, as propriedades químicas e organolépticas praticamente não são alteradas (Quast, 1964).

Durante a reconstituição do colostro com água destilada estéril, não houve dificuldade de reidratação, porém esta foi realizada com o auxílio de uma seringa, cuja agulha era introduzida na tampa de borracha do recipiente. Desta maneira procurou-se evitar a contaminação do produto pelo ar atmosférico.

A secagem do leite humano por liofilização pode se constituir em processo trabalhoso para os Bancos de Leite hospitalares, já que exigiria uma etapa de congelação do mate

rial. Em nosso trabalho, esta operação foi realizada por imersão do recipiente com o colostro, em sistema de nitrogênio líquido com mistura de éter e acetona a -20°C , como meio transmissor. Os recipientes, tipo vidros de penicilina, foram escolhidos para acondicionar as amostras liofilizadas, pelo fato de serem facilmente adaptáveis ao liofilizador.

2.4. Amostras Pasteurizadas

Nossos resultados demonstraram que a pasteurização ($62,5^{\circ}\text{C}$, 30 minutos) poderá ser um método eficiente para diminuição e eliminação de microorganismos do colostro humano.

Vários trabalhos relataram que a pasteurização lenta pode eliminar microorganismos patogênicos presentes no leite humano, como por exemplo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* β hemolítico (Lucas & Roberts, 1979, McEnery & Chattopadhyay, 1978. Raptopoulou-Gigi et alii, 1977).

Contudo, poderão sobreviver a esta pasteurização, a enterotoxina produzida por *Staphylococcus aureus* coagulase positiva (Williamson et alii, 1978), o antígeno Austrália (Linne mann & Goldberg, 1974), e as bactérias termodúricas (Frazier, 1962). Foi relatado que, cerca de 30% das colônias de *Staphylococcus* coagulase positiva, produzem uma enterotoxina, porém a capacidade poderá diminuir se o produto estiver muito contaminado por microorganismos saprófitas (Lucas & Roberts, 1979). Alguns autores recomendam que sejam eliminadas as amostras de leite contaminadas por *S. aureus* coagulase positiva, ou pertencentes a doadoras portadoras do antígeno Austrália, devido

aos possíveis danos que possam causar no organismo dos recém-nascidos carentes (McEnery & Chattopadhyay, 1978).

O tipo de pasteurização empregado poderá influenciar a qualidade microbiológica e imunológica das amostras submetidas ao tratamento (Lucas et alii, 1978).

Valemos de um aparelho de banho-maria com aquecimento controlável através de termostato e sistema de agitação, para assegurar um aquecimento uniforme. Os tubos fechados contendo as amostras de colostro fresco foram imersos no banho de água a $62,5^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0,03^{\circ}\text{C}$) sob constante agitação, até que toda a amostra atingisse esta temperatura.

A verificação da temperatura interna da amostra foi efetuada com o auxílio de um termômetro colocado dentro de um tubo controle contendo igual volume de amostra. As amostras foram mantidas a $62,5^{\circ}\text{C}$, por 30 minutos, sendo então resfriadas rapidamente em banho de gelo.

Amostras de leite humano pasteurizadas e conservadas no congelador (0°C) por seis meses foram administradas com sucesso a recém-nascidos prematuros (Davy, 1975).

2.5. Controle de Qualidade Microbiológica do Colostro Hu mano Fresco, Pasteurizado e Liofilizado.

Não se tem conhecimento de um documento oficial que determine limites de tolerância para contaminantes microbianos do colostro e leite humano.

Sabe-se que os recém-nascidos prematuros e de baixo peso para a idade gestacional, além de necessitarem um aumento

protéico calórico na dieta possuem alta susceptibilidade às infecções (Tassovatz & Kotsich, 1961, citados por Martins Filho, 1976).

Alguns autores têm adotado critérios empíricos para estipular que tipo e quantidade de microorganismos podem estar presentes no leite humano fresco e pasteurizado (McEnery & Chattopadhyay, 1978, Williamson er alii, 1978). Estes pesquisadores não observaram infecções gastrointestinais nos bebês prematuros ou de baixo peso que haviam recebido o leite humano com as características microbiológicas controladas. Estes padrões microbiológicos, já descritos na revisão bibliográfica sobre o assunto, foram criticados por Lucas et alii (1978), quanto a alta tolerância de *S. aureus* (10^3 colônias/ml).

A utilização do leite humano cru, sem tratamento térmico prévio, é a maneira preferida de administração ao prematuro. A pasteurização e em maior grau a fervura, podem diminuir e até eliminar alguns dos fatores de resistência microbiana mais importantes do leite humano (The Special..., 1978). Contudo, a presença maciça de certas bactérias no leite humano, também podem destruir seus componentes imunológicos (Williamson et alii, 1978).

Portanto, torna-se necessário ao Banco de Leite, regulamentar normas que fixem os limites de tolerância para os contaminantes microbianos do leite humano fresco e processado.

O objetivo fundamental dessas normas seria o de estabelecer padrões microbiológicos a fim de assegurar: 1) adequação do ponto de vista da saúde pública, para que não cause intoxi

cações ou doenças infecciosas. 2) Capacidade de conservação , sem que haja riscos de deterioração por microorganismos.

De acordo com os nossos resultados e os dados da literatura, poderíamos sugerir que os padrões microbiológicos para o leite humano, seguissem as recomendações da Resolução nº 20/76 do Comitê Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (C.N.N.P.A.).

Esta resolução estabelece padrões microbiológicos para os alimentos infantis, como tais considerados alimentos para lactentes, pré-escolares e escolares.

Nesta categoria, o Comitê de Métodos Microbiológicos para Alimentos (APHA), 1976 recomenda as seguintes análises:

1. Análise de Rotina

- Determinação de Fungos e Leveduras
- Contagem de Bactérias Mesófilas Totais
- Determinação de microorganismos coliformes
- Determinação de *E. coli*
- Determinação de *Staphylococcus aureus*
- Determinação de *Salmonella*

Dentro destas análises são considerados como imprescindíveis: contagem de microorganismos aeróbios mesófilos; determinação de microorganismos coliformes e *E. coli*. A análise de *Salmonella* somente será necessária se for constatada a presença de *E. coli*.

2. Análises Especiais.

- Contagem de microorganismos termófilos
- Contagem de esporos
- Organismos aeróbios sulfito redutores
- Determinação de *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus*

Estas análises são de especial interesse para farinhas a serem utilizadas em produtos enlatados. No caso particular do leite humano estas análises seriam de escassa significância.

Os microorganismos considerados como imprescindíveis de serem analisados rotineiramente (APHA, 1976) nos produtos materno-infantis foram comumente os mais encontrados nas amostras das doadoras do grupo 1 ou 2, com excessão da *E. coli*.

As análises de rotina já recomendadas para os alimentos infantis, poderíamos sugerir a inclusão de mais uma prova microbiológica para o leite humano: a pesquisa de *Streptococcus faecalis*. Este microorganismo esteve presente em alta contagem nas amostras das doadoras do grupo 1 (Maternidade de Campinas) podendo ser indicador de contaminação microbiana durante a coleta do leite. Segundo Williamson et alii (1978) os *Streptococcus* podem passar da boca do bebê para os ductos mamilares maternos, proliferando-se aí, durante as mamadas subseqüentes.

Aplicando-se a resolução do C.N.N.P.A. nº 20/76 para o leite ou colostro humano, poderia-se relacionar os seguintes níveis de contaminação aceitáveis para cada tipo de microorganismos.

A - Leite Humano pronto para o consumo sem tratamento térmico prévio

Microorganismo	Contagem por mililitro: máximo
Contagem de bactérias mesófilas totais	10^4
Coliformes	10^2
<i>Escherichia coli</i>	ausente em 1 ml
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	ausente em 1 ml
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa e DNA'se negativa(1)	10^3
<i>Streptococcus faecalis</i> (1)	$2,5.10^3$

(1). Utilizou-se os padrões adotados por McEnery & Chattopadhyay (1978) & Williamson et alii (1978), pois o C.N.N.P. A. (1976) não determinou critérios de aceitação para o número de colônias destes microorganismos.

As amostras de leite coletadas durante 12 horas poderiam ser misturadas e homogeneizadas, retirando-se uma alíquota para as análises microbiológicas. O "pool" de amostras deveria ser conservado no congelador a -18°C , até que os resultados das análises de rotina sejam conhecidos. Nossos resultados indicaram que a congelação inibiu a proliferação bacteriana.

Amostras descongeladas devem ser logo utilizadas para evitar a proliferação microbiana.

B - Leite Humano que necessita ser pasteurizado antes do consumo ou processamento.

Os seguintes limites de contagem microbiana devem ser encontrados, antes da pasteurização do leite.

Microorganismos	Contagem por mililitro: máximo
Contagem de bactérias mesófilas totais	10^6
Coliformes	10^3
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (3)	ausente em 1 ml
<i>Staphylococcus</i> coagulase e DNA'se negativa (4)	10^3
<i>Streptococcus faecalis</i> (4)	10^3

(3). Os padrões do C.N.N.P.A. (1976) recomendam para produtos que precisam de cocção antes do consumo, um limite máximo de 10 colônias de *Staphylococcus* coagulase positivos. Pelo fato da enterotoxina termoe estável ser resistente à pasteurização, nós sugeriríamos que o leite humano com estas características seja descartado.

(4). Segundo McEnery & Chattopadhyay (1978) & Williamson et alii (1978).

A contagem de microorganismos no leite humano pasteurizado não excederá aos limites estabelecidas em A.

Os dados bibliográficos não se referem a presença do *Mycobacterium tuberculosis* no leite humano. Seria conveniente pasteurizar as amostras das doadoras com prova tuberculina positiva, principalmente se o leite não for destinado a seus

próprios filhos. O mesmo procedimento deveria ser aplicado ao leite das mulheres sífilíticas.

Deverão ser abandonadas as amostras de leite humano a serem pasteurizadas, cuja contagem microbiológica extrapolar os limites estabelecidos em B.

Vírus potencialmente perigosos como o citomegalovírus e o hepatovírus foram identificados no leite humano, apesar de não terem sido notificadas infecções neonatais desta procedência (Linnemann & Goldberg, 1974, Reynolds et alii, 1973). Pelo fato destes vírus sobreviverem à pasteurização, não seria conveniente recrutar doadoras portadoras de viroses.

Para evitar intoxicações e infecções dessa natureza, os Bancos de Leite poderiam adotar medidas profiláticas, exigindo atestado de saúde das doadoras e funcionários. Se o Banco de Leite estiver localizado no hospital ou maternidade onde as doadoras estão internadas, seus prontuários ou fichas podem ser analisadas quanto a ocorrência de doenças infecto-contagiosas e tipo de drogas que estão ingerindo. Também não deveriam ser recrutadas doadoras que apresentassem doenças parasitárias cutâneas na mama.

C - Leite Humano liofilizado que será consumido imediatamente após reconstituição.

Microorganismos	Contagem por mililitro: máximo
Contagem total de bactérias mesófilas	5.10^4
Coliformes	10
<i>Escherichia coli</i>	ausentes em 1 ml
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivos	ausentes em 1 ml
<i>Staphylococcus</i> coagulase e DNA'se negativos	10^3
<i>Streptococcus faecalis</i>	10^3

3. Características Imunológicas das Amostras Frescas e Processadas.

Quando se referem aos Bancos de Leite Humano, geralmente os pesquisadores se questionam sobre qual ou quais componentes nutricionais deveriam merecer maiores atenções, durante o processamento e estocagem (Humam..., 1976).

Consideramos importante investigar no colostro humano, os níveis de imunoglobulinas e lisozima, proteínas conhecidas por possuírem funções antimicrobianas. A IgA colostrar é reconhecida como o fator de defesa imunitária mais importante do colostro e leite humano (Jelliffe & Jelliffe, 1979, Mata & Wyatt, 1971). Esta imunoglobulina é responsabilizada pelo ataque às infecções virais e bacterianas, atuando principalmente

na prevenção e terapia das doenças diarreicas causadas por *E. coli* toxigênica (Stoliar et alii, 1976). É também admitido que a lise de *E. coli* pode ser ocasionado pela associação de IgA colostrar e lisozima (Adinolfi et alii 1966, citado por Goldman & Smith, 1973). Stoliar et alii (1976), demonstraram que a atividade antitóxica do colostro está relacionada com a fração IgA, porém não com as frações IgG e IgM.

As imunoglobulinas IgG e IgM colostrais parecem possuir estrutura análoga à do soro humano (Hanson & Weinberg, 1972), no entanto a IgA colostrar tem estrutura, propriedades químicas e imunológicas bem diferentes da IgA sérica (Bellanti, 1968, Hanson, 1961, citado por Martins Filho, 1976). Para quantificar a IgA colostrar das amostras frescas e processadas, utilizou-se como padrão a IgA secretória isolada por cromatografia e caracterizada por imunoeletroforese simples e cruzada.

A IgA colostrar isolada, foi considerada como uma preparação homogênea. A análise por imunoeletroforese simples frente ao imunosoro anti-IgA (obtido em carneiro), demonstrou que a fração FR_1 não apresentava contaminantes antigênicos. Quando a fração FR_1 foi analisada por imunoeletroforese cruzada, detectou-se apenas um sistema precipitante principal forte com atividade antigênica sobre anti-IgA monoespecífica. Como a imunoeletroforese cruzada é um método de sensibilidade extrema, podendo detectar contaminantes antigênicos em concentrações baixíssimas ($1\mu\text{g/ml}$) a depender da potência dos anticorpos contra esses contaminantes (Axelsen et alii, 1973, citado por Araújo, 1979), consideramos a IgA colostrar imunoquimicamente purificada.

3.1. Amostras Frescas

Os dados obtidos nesse trabalho indicam que o colostro humano das doadoras do grupo 1 (previdenciárias) e 2 (indigentes) contém significantes níveis de IgA, contrastando com as menores concentrações de IgG e IgM. Resultados semelhantes foram mencionados por Amman & Stiehm (1966); Bazzi et alii (1970); Michael et alii (1971).

Para quantificação de IgG foram testadas dois tipos de placas de imunodifusão radial, ambas apresentando concentração de antisoro inadequado aos níveis presentes no colostro das doadoras dos grupos 1 e 2. Portanto, para uma determinação mais precisa de IgG, seria conveniente utilizar uma placa cuja concentração de anti-soro fosse menor. Ford et alii (1977) não detectaram IgG no colostro humano enquanto outros autores encontraram níveis tão baixos quanto 5,9 mg/100 ml (Reddy et alii, 1977).

Os níveis de IgA e IgM não foram influenciados pela diferente condição sócio-econômica das doadoras do grupo 1 (previdenciárias) e 2 (indigentes). Outros estudos demonstraram que o estado nutricional da mãe não afeta as concentrações de imunoglobulinas, lisozima e lactoferrina (Reddy et alii, 1977).

Estes resultados são de grande importância para a saúde pública, pois a maioria das mulheres de condições sócio-econômica baixa são desnutridas. Esta pode ser uma das razões da prática do aleitamento materno ser aconselhada principalmente entre as famílias de baixa renda. Nesse caso, as mulheres internadas nas unidades de puerpério das maternidades sob a condição de indigentes, também poderiam doar o colostro

desde que o volume produzido fosse adequado.

A concentração média de lisozima encontrada no colostro fresco, mostrou-se similar à relatada por outros autores (Chandan et alii, 1964, Reddy et alii, 1977).

O volume de colostro analisado em cada coleta era composto de amostras de doadoras pertencentes a diferentes períodos de lactação. Este fato poderia explicar as variações encontradas nas concentrações médias de IgA, IgM e lisozima. Vários trabalhos constatarem no colostro, diferentes níveis de imunoglobulinas e lisozima durante os dias subseqüentes ao parto (Amman & Stiehm, 1966, Ogra & Ogra, 1978).

Foi relatado que crianças prematuras ou de baixo peso para a idade gestacional, muito raro apresentaram diarreia, quando alimentadas com colostro humano (Fernandez et alii, 1979, Svirsky - Gross, 1978).

Larguia et alii (1974) conseguiram reduzir a alta incidência de diarreia em recém-nascidos internados, através da administração de 5 ml de colostro/kg/dia.

3.2. Amostras Congeladas

A congelação é considerado o melhor método de estocagem do leite humano por não alterar de maneira significativa os níveis de imunoglobulinas, lactoferrina, lisozima e títulos dos anticorpos anti *E. coli* (Evans et alii, 1978, Lieberman et alii, 1977).

Os decréscimos nas concentrações de IgA e IgM após a estocagem nos congeladores por 4, 8 ou 12 semanas não foram

significativos para a maioria das amostras.

A variação ocorrida nas diversas temperaturas pode ser devida ao erro na medida das imunoglobulinas. Apesar da técnica de imunodifusão radial ser considerada um método supersensível, o erro provável na medida de uma imunoglobulina poderá ser de 10% (Fahey & McKelvey, 1964). Algumas amostras congeladas apresentaram maior porcentagem de redução dos níveis de IgA e IgM, talvez causada por ciclos de descongelação e recongelação ocasionados por falta de energia elétrica.

Segundo Goldman (1977) estes ciclos destroem os leucócitos viáveis do colostro, células que sintetizam lisozima, lactoferrina, IgA e interferon. Os leucócitos são aparentemente as células responsáveis pela proteção contra enterocolite necrotizante, infecção que com frequência acomete recém-nascidos prematuros e de baixo peso (Beer & Billingham, 1975).

3.3. Amostras Pasteurizadas

A termoestabilidade dos diversos componentes do colostro humano é bem discutida, pois os autores apresentam resultados diversos quando as amostras são aquecidas a mesma temperatura.

Encontrou-se neste trabalho um decréscimo de 21% nos níveis médios de IgA, resultado compatível aos 20% de redução relatados por Ford et alii (1977), quando foi utilizada a mesma temperatura de pasteurização (62,5°C, 30 minutos). Lieberman et alii (1977) demonstraram que amostras pasteurizadas a 63°C durante 30 minutos apresentaram uma redução de 33% nos

níveis de IgA. No entanto, outros autores não encontraram alterações significativas nos níveis médios de IgA (Evans et alii, 1978, Raptopoulou - Gigi, 1977).

A pasteurização causou maiores decréscimos na concentração de IgM, resultado também citado em outros trabalhos (Ford et alii, 1977, Liebhaver et alii, 1977).

Em média, as amostras pasteurizadas perderam 46% da atividade de lisozima, alteração similar aos 47% de redução encontrados por Chandan et alii (1964), após pasteurização a 62°C, 30 minutos. A atividade lítica do colostro parece ser melhor conservada quando as amostras pasteurizadas são previamente ajustadas ao pH ácido (Evans et alii, 1978).

A concentração de lisozima foi avaliada em amostras de pH 7,0 a 7,2, considerado como pH normal do colostro humano.

Jollès, 1960 (citado por Jollès & Jollès, 1961) verificou que a atividade lítica do leite humano era conservada após o aquecimento a 100°C por 3 minutos, quando as amostras apresentavam-se em pH 4,5, porém totalmente destruídas em pH 7,5.

A grande variação da termoestabilidade da lisozima nas diversas amostras analisadas, foi também registrada por Chandan et alii (1964).

Segundo Lucas et alii (1978), a eficácia da pasteurização na preservação das propriedades imunológicas dependerá dos sistemas de aquecimento e refrigeração, volume das amostras, tamanho e tipo de recipientes utilizados para acondicioná-las.

Temperaturas acima de 63°C podem causar acentuada que das nos níveis de IgA, IgG, IgM, lactoferrina e lisozima (Chan dan et alii, 1964, Evans et alii, 1978, Raptopoulou - Gigi, 1977).

A utilização do leite humano fervido para alimentação de prematuros não tem sido recomendado, pois este processamento destrói o fator bífidus, causando modificações na flora fecal (Wilkinson et alii, 1976). Além disso a fervura afeta profundamente a absorção de gorduras pelos bebês prematuros, resultando em pouco ganho de peso quando comparado aos alimentados com leite humano fresco (Williamson et alii, 1978).

3.4. Amostras Liofilizadas

Apesar de ser um método relativamente caro e trabalhoso, a liofilização apresenta algumas vantagens em relação aos outros métodos de conservação do leite humano.

Poderá se constituir em um processo de concentração de imunoglobulinas e outros componentes imunológicos tão necessários para a sobrevivência de bebês prematuros e crianças imunodeficientes. Além disso a estocagem e o transporte do leite liofilizado apresentam menos probabilidade de contaminação bacteriana e perda dos componentes nutricionais. Já que ocorre alguma redução nos níveis de IgA, IgG e lisozima, o colostro poderia ser reconstituído a um volume menor do que o original.

Após liofilizadas, as amostras apresentaram decréscimos variáveis nas taxas de IgA, IgM e lisozima, provavelmente

devido a descuidos durante a reconstituição das amostras. Resultados semelhantes foram descritos por Liebhaver et alii (1977), quanto aos decréscimos dos níveis de imunoglobulinas.

Nota-se na literatura pesquisada a preocupação em se estipular os padrões microbiológicos aceitáveis para o leite humano, porém não encontramos dados referentes ao estabelecimento de níveis mínimos dos componentes imunológicos e nutricionais tão importantes para os recém-nascidos.

Crianças prematuras e de baixo peso possuem maiores exigências de proteínas, cálcio e fatores imunológicos havendo necessidade de preservar estes componentes no colostro humano. Sempre que possível e se a acontagem microbiana não for elevada, seria conveniente utilizar o colostro sem nenhum tratamento. Se a estocagem for necessária deverá se adotar o uso de baixas temperaturas.

Apesar do colostro processado ou fresco ser utilizado com sucesso nas Unidades de Prematuros, consideramos necessário avaliar os possíveis riscos e benefícios.

Uma vez analisados os efeitos do processamento e estocagem sobre a qualidade microbiológica e imunológica de alguns componentes do colostro, nossa perspectiva de trabalho estará voltada para a montagem e operacionalização de um Banco de Leite Humano.

A experiência adquirida nesta pesquisa nos permite fazer algumas considerações sobre os Bancos de Leite Humano:

- 1) Há necessidade de se estabelecer os regulamentos para o funcionamento do Banco de Leite: pessoal, equipamento, recrutamento de doadoras, métodos, técnicas de coleta, preservação

e controle de qualidade.

- 2) Há necessidade de uma ampla campanha de conscientização pa
ra conseguir doadoras, tanto nas maternidades como em comu
nidades. Estas campanhas poderiam contar com a implementa
ção promocional de clubes de serviço e de organizações vo
luntárias.
- 3) As doadoras poderiam ser beneficiadas por prioridade no a
tendimento médico, lanches e transporte gratuito, sem que
haja remuneração, a fim de não ocasionar um problema social
pelo uso de uma parcela da população menos favorecida.
- 4) Os Bancos de Leite Humano poderiam desenvolver uma ativida
de paralela de orientação aos problemas relacionados com a
amamentação, constituindo-se também em centros de informa
ções sobre aleitamento materno. As mães poderiam ser ins
truídas sobre as técnicas de coleta e estocagem do seu lei
te.

CONCLUSÕES

- 1) O volume de colostro coletado por meios artificiais mos trou-se independente da categoria social, das doenças du rante a gravidez, das complicações pós-parto, uso de dro gas (corticóides e antibióticos) e idade da doadora. Ou tras variáveis inerentes a doadora como o período de lacta ção, patologia da mama pós-parto, tipo de parto e número de partos influenciaram significativamente sobre a quanti dade de colostro obtido.
- 2) As concentrações de proteínas totais e de IgA apresenta ram-se altas no colostro das doadoras de ambos os grupos. Estas concentrações e as de IgM não foram influenciadas pe la categoria social da doadora. Observou-se entretanto a grande variabilidade dos níveis de proteínas e imunoglobu linas em cada grupo de doadoras.
- 3) As amostras de colostro das doadoras do grupo 1 (Previden ciárias) apresentaram-se qualitativa e quantitativamente mais colonizadas pelos microorganismos pesquisados. Esta dife rença foi devida aos métodos de coleta empregados incluin do-se as condições de higiene da bomba ordenhadeira e o lo

cal de coleta. A contaminação predominante de *Streptococcus faecalis* e de *Staphylococcus aureus* no colostro destas doadoras provavelmente foi veiculada pelos recém-nascidos do berçário.

- 4) O colostro pode ser mantido congelado e liofilizado sem que haja desenvolvimento de microorganismos. Poderá haver um decréscimo na contagem bacteriana durante a estocagem no congelador, se a contagem inicial não for elevada.
- 5) A congelação, liofilização e a pasteurização causaram decrêscimos variáveis e não muito importantes nas taxas de IgA, porém maiores prejuízos aos níveis de IgM e lisozima. A congelação foi prejudicada pelas constantes faltas de energia talvez o fator responsável pela variação nos decréscimos de imunoglobulinas e lisozima.

Entre as diversas temperaturas e períodos de estocagem no congelador não ocorreram diferenças significativas na flora microbiológica e concentração de imunoglobulinas.

A pasteurização a 62,5°C durante 30 minutos, mostrou-se um método eficaz de esterilização do colostro, desde que, as amostras não apresentassem contagens iniciais altas.

- 6) Há necessidade da existência de Bancos de Leite Humano instalados de forma adequada no país. Para tanto, a condição "sine qua non" é a assepsia, que se traduz nas condições de higiene da mãe, dos equipamentos de coleta e do meio ambiente.

O conjunto de resultados sugere que a congelação poderá ser o método mais eficaz para a preservação do colostro, ficando a liofilização como segunda alternativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 1st. ed. Washington D.C. APHA, 1976.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of dairy products*. New York, APHA, 1972. p. 102-103.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 13. ed., New York, APHA, 1971. p. 661-79.
- AMMANN, A. J. & STIEHM, E.R. Immunoglobuline levels in colostrum and breast milk and serum from formula and breast fed newborns. *Proceedings Experimental of Biological Medical*, 122: 1098-110, 1966.
- ANSALDI, N.; CIRIOTI, G. & LIBERATORI, J. Le immunoglobuline nel latte e nel colostro di donna. *Minerva Pediatrica*, 20: 1969, 1968.
- APERIA, A.; BROBERGER, O.; KERSTI, T. & ZETTERSTRÖM, R. Renal response to an oral sodium load in newborn full term infants. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 61: 670-6, 1972.

- APERIA, A.; BROBERGER, O.; THODENIUS, K. & ZETTERSTRÖM, R. Developmental study of the renal response to an oral salt load in preterm infants. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 63: 517-24, 1974.
- APPLEBAUM, R. M. *Técnicas modernas para o êxito da amamentação*. Maceió, La Leche League de Maceió, 1970. 28 p.
- ARAÚJO, P.M.F. *Estudo imunoquímico da soro-albumina bovina de gradada pela catepsina D de Coelho*. Campinas, UNICAMP, S.P. 1975. 155 p. (Tese de Mestrado apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analyses*. 11. ed. Washington, 1970. p. 858.
- AXELSEN, N.H.; KRÖLL, J. & WEEKE, B. *A manual of quantitative immunoelectrophoresis*. Methods and applications. Oslo, University Forlaget, 1973.
- BAZZI, C.; CATTANEO, R.; MIGUONE, V. & FARINA, M.V. Further observations on immunoglobulins of external secretions. *Program of Immunobiological Standard*, 4: 333, 1970.
- BEER, A.E. & BILLINGHAM, R.E. Immunologic benefits and hazards of milk in maternal perinatal relationship. *Annals of Internal Medicine*, 83 (6): 865-71, 1975.
- BELLANTI, J.A. Role of local gamma - A - immunoglobulins in immunity. *American Journal of Diseases of Children*, 115: 239-46, Feb, 1968.
- BENDER, A.E. *Dietetic Foods*. New York, Chemical Publishing, 1967. p. 61.
- BENLLOCH, A.E. & OTAMENDI, F.P. *Liofilización. I. Aspectos fundamentales*. Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos, 7 (2): 214-20, 1967
- BEZKOROVAINY, A. Human milk and colostrum proteins: a review. *Journal of Dairy Science*, 60 (7): 1028-37, 1977.

- BROWN, R.E. Breast feeding in modern times. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 26: 556-62, May, 1973.
- BULLEN, J.J. & ROGERS, H.J. Iron-binding proteins in milk and resistance to *Escherichia coli* infections in infants. *British Medical Journal*, 1: 69-75, 1972.
- CATZ, P.B. & GIACOIA, J.L. Drugs and metabolites in human milk. In: Galli, C.; Jacini G. & Pecile, A. *Dietary lipids and postnatal development*. New York, Raven Press, 1973. p. 247.
- CHANDAN, R.C.; SHAHANI, K.N & HOLLY, R.G. Lysozyme content of human milk. *Nature*, 204 (4957): 76-7, 1964.
- CHANDRA, R.K. Immunological aspects of human milk. *Nutrition Reviews*, 36 (9): 265-72, 1978.
- COMITÊ NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Resolução nº 20/76. Diário Oficial da União, Brasília, 25 out. 1976. Seção 1, pt. 1.
- COMMITTEE ON MOTHER'S MILK OF AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Recommended standards for the operation of mother's milk bureaux. *The Journal of Pediatrics*, 23 (1): 112-28, July, 1943.
- DAVY, S.T. Human milk banks. *Nursing Times*, 15: 758-61, May, 1975.
- DOLBY, J.M.; HONOUR, P. & VALMAN, H.B. Bacteriostasis of breast-fed infants by milk resistant organism. *Journal of Higiene*, 78 (1): 85-93, 1976.
- DUNCOMBE, M.A. A different kind of famine. *Nursing Times*, 15: 762-3, May, 1975.
- EMERSON, P.W. The collection and the preservation of human milk. *Journal of American Medical Association*, 78 (9): 641-2, 1922.

- EVANS, T.J.; RYLEY, H.C.; NEALE, L.M.; DODGE, J.A. & LEWARNE, V.M. Effect of storage and heat on antimicrobial proteins in human milk. *Archives of Disease in Childhood*, 53: 239-41, 1978.
- FAHEY, J.L. & McKELVERY, E.M. Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody - agar plates. *The Journal of Immunology*, 94 (1): 84-90, 1965.
- FERGUSON, B.B.; WILSON, D.J. & SCHAFFNER, W. Determination of nicotine concentrations in human milk. *American Journal of Diseases of Children*, 130: 837-9, 1976.
- FERNÁNDEZ F.P.; TORRES-GOITIA, J.; FERREIROS, M. & RIZZARDINI, P.M. Estudio en la lactancia materna. II. Colonización intestinal en recién nacidos alimentados con leche humana. *Boletín Médico del Hospital Infantil*, 36 (4): 605-10, 1979.
- FOLIOT, A.; PLOUSSARD, J.P.; HOUSSET, E.; CHRISTOFOROV, B.; LUZEAU, R. & ODIEVIE, M. Breast milk jaundice: in vitro inhibition of rat liver bilirubin-uridine diphosphate glucuronyltransferase activity and protein - bromosulfophthalein binding by human breast milk. *Pediatric Research*, 10: 594-8, 1976.
- FOMON, S.J. *Infant Nutrition*, 2. ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1974, p. 161.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Bacteriological analytical manual*. 4. ed. Washington, Association of Official Analytical Chemists, 1976.
- FORD, J.E.; LAW, B.A.; MARSHALL, M.E. & REITER, B. Influence of heat treatment of human milk on some of its protective constituents. *The Journal of Pediatrics*, 90 (1): 29-35, 1977.
- FOSBROOKE, A.S. & WHARTON, B.A. 'Added lactose' and 'added sucrose' cow's milk formulae in nutrition of low birthweight babies. *Archives of Disease in Childhood*, 50: 409-18, 1975.

- FRAZIER, W.C. *Microbiologia de los Alimentos*, Zaragoza, Editorial Acribia, 1962. p. 116-33.
- GOLDMAN, A.S. Human milk, leukocytes, and immunity. *The Journal of Pediatrics*, 90 (1) 167-8, 1977.
- GOLDMAN, A.S. & SMITH, C.W. Host resistance factors in human milk. *The Journal of Pediatrics*, 82 (6): 1082-8, 1973.
- GOMES, N.R.; MATTOS, L.C.G.; SOUZA, N.P. & NARZETTI, M. Es tafilococcia dos berçários através da mamada. *Revista Brasileira de Medicina*, 29 (4): 176-7, 1972.
- GRABAR, P. & WILLIAMS, C.A. Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés élektrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application on sérum sanguin. *Biochimique and Biophysique Acta*, 10: 193, 1953.
- GYÖRGY, P. A hitherto unrecognized biochemical difference between human milk and cow's milk. *Pediatrics*, 11: 98-108, 1953.
- GYÖRGY, P. The uniqueness of human milk. Biochemical aspects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 24: 970-5, Aug, 1971.
- GYÖRGY, P.; DHANAMITTA, S. & STEERS, C. Protective effects of human milk in experimental Staphylococcus infection. *Science*, 137: 338-40, 1962.
- HACK, M.; BOXERBAUM, B. & FANAROFF, A. Fresh human milk: bacterial flora in urban U.S. mothers. *Pediatric Research*, 9: 304, 1975.
- HANSON, L. Å. & JOHANSSON, B.G. Immunological studies of milk. In: "Milk proteins". New York, Academic Press, 1970. p. 45-123.
- HANSON, L. Å.; CARLSSON, B.; AHLSTEDT, C.; SVANBORG, E. & KAIJSER, B. Fatores da defesa imunitária no leite humano. *Anais Nestlé. Amamentação Materna*. São Paulo, (103): 30-9, set. 1979.

- HANSON, F.E. & WEINBERG; J. Breast milk and defense against infection in the newborn. *Archives of Disease in Childhood*, 47: 845-8, 1972.
- HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*, 48: 422-7, 1972.
- HEATING human milk. *British Medical Journal*, 1 (6073): 1372, 1977.
- HUMAN milk in premature infant feeding: summary of a workshop. *Pediatrics*, 57 (5): 741-2, May, 1976.
- HEYNDRIKX, G.V. Investigations on the enzymes in human milk. *Annales Paediatric*, 198 (5): 356-62, 1962.
- IYENGAR, C. & SELVARAJ, R.J. Intestinal absorption of immunoglobulins by newborn infants. *Archives of Disease in Childhood*, 47 (253): 411-4, 1972.
- JELLIFFE, D.B. & JELLIFFE, E.F.P. Human milk, nutrition and the world resource crisis. *Science*, 188 (9): 557-61, 1975.
- JELLIFFE, D.B & JELLIFFE, E.F.P. Human milk in the modern world. Oxford, Oxford University, 1979, 500 p.
- JOLLÈS, P. & JOLLÈS, J. Lysozyme from human milk. *Nature*, 192 (4808): 1187-8, 1961.
- LACHICA, R.V.F.; GENIGEORGIS; C.; HOEPRICH, P.D. & HOEPRICH, P.D. Metachromatic Agar-Diffusion Methods for Detecting Staphylococcal Nuclease Activity. *Applied Microbiology*, 21 (4): 585-7, Apr. 1971.
- LARGUIA, A.M.; URMAN, J.; CERIANI, J.M.; O'DONNELL, A.; STOLIAR, O. & MARTINEZ, J. C. Inmunidad local en el recién nacido. Primera experiencia con la administración de colostro humano a recién nacidos pretérmino. *Archivos Latinoamericanos de Pediatría*, 72 (5): 109-25, 1974.

- LASKOWSKI Jr. M. & LASKOWSKI, M. Crystalline trypsin inhibitor from colostrum. *The Journal of Biological Chemistry*, 190: 563-73, 1951.
- LAWTON, J.W.M. & SHORTRIDGE, K.F. Protective factors in human breast milk and colostrum. *The Lancet*, 1 (8005): 253, 1977.
- LECHTIG, A.; MATA, L.J. & ARROYAVE, G. Evaluación de la técnica de inmunodifusión radial para la determinación de inmunoglobulinas y una fracción del complemento hemolítico en el suero. *Revista Latino Americana de Microbiología*, 12: 131-6, 1970.
- LEERBECK, E. & SØNDERGAARD, H. The total content of vitamin D in human milk and cow milk. *British Journal of Nutrition*, 44: 7-12, 1980.
- LIEBHABER, M.; LEWISTON, N.J. & ASQUITH, M.T. Comparison of bacterial contamination with two methods of human milk collection. *The Journal of Pediatrics*, 92 (2): 236-7, 1978.
- LIEBHABER, M.; LEWISTON, N.J.; ASQUITH, M.T.; OLDS-ARROYO, L. & SUNSHINE, P. Alterations of lymphocytes and of antibody content of human milk after processing. *The Journal of Pediatrics*, 91 (6): 897-900, 1977.
- LINDBLAD, B.S. & RAHIMTOOLA, R.J. A pilot study of the quality of human milk in a lower socio economic group in Karachi, Pakistan. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 63: 125, 1974.
- LINNEMANN, Jr. C.C. & GOLDBERG, S. HBAg in breast milk. *The Lancet*, 2: 155, July, 1974.
- LÖNNERDAL, B.; FORSUM, E. & HAMBRAEUS, L. A longitudinal study of the protein content of human milk from well nourished Swedish mothers. *Nutrition and Metabolism*, 21 (1): 106-9, 1977.

- LUCAS, A.; GODDARD, P. & BAUM, J.D. Raw or pasteurized human milk? *British Medical Journal*, 1 (6115): 781, 1978.
- LUCAS, A. & ROBERTS, C.D. Bacteriological quality control in human milk-banking, *British Medical Journal*, 1: 80-2, 1979.
- LUCAS, A.; SMITH, A.; BAUM, J.D. & DAY, D.J. Human milk banking. *British Medical Journal*, 1 (6159): 343, 1979.
- LUCKENS, J.N. Iron deficiency and infection. *American Journal of Diseases of Children*, 129: 160-2, Feb, 1975.
- MACY, I.G. Composition of human colostrum and milk. *American Journal of Diseases of Children*, 78: 589-603, 1979.
- McCLELLAND, D.B.L. & McDONALD, T.T. Antibodies to cow's milk protein in human colostrum. *The Lancet*, 2 (7997): 1251, 1976.
- McENERY, G. & CHATTOPADHYAY, B. Human milk bank in a district general hospital. *British Medical Journal*, 2: 784-4, Sept. 1978.
- MANCIMI, G.; CARBONARA, A.D. & HEREMANS, J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immuno diffusion. *Immunochemistry*, 2: 235-54, 1965.
- MARTINS FILHO, J. *Contribuição ao estudo do aleitamento materno em Campinas*. Campinas, UNICAMP, S.P. 1976, 260 p. [Tese de Livre Docência apresentada a Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.]
- MARTINS FILHO, J.; PESTANA DE CASTRO, A.F.; SERAFIM, M.B. & GOMES, J.A. Anticorpos anti-enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* e anti-fator de colonização em colostro humano. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22 (1): 7-14, Jan-Fev. 1980.
- MATA, L.J. & WYATT, R.G. Host resistance to infection. *American Journal of Clinical Nutrition*, 24: 976-86, 1971.

- MICHAEL, J.G.; RINGENBACK, R. & HOTTENSTEIN, S. The anti-microbial activity of human colostral antibody in the new born. *The Journal of Infections Diseases*, 124 (5): 445-8, 1971
- NEWCOMB, R.W.; NORMANSELL, D. & STANWORTH, D.R. A structural study of human exocrin IgA globulin. *The Journal of Immunology*, 101 (105): 905-14, 1968.
- NORDIO, S.; LEVI, N. & ANTENER, I. Aspectos nutricionais e metabólicos do aleitamento ao seio. *Anais Nestlé. Amamentação Materna*. São Paulo, (103): 80-9, set. 1979.
- OBLINGER, J.L. & KOBURGER, J.A. Understanding and teaching the most propable number technique. *Journal of Milk and Food Technology*, 38 (9): 540-5, 1975.
- OGRA, S.S. & OGRA, P.L. Immunologic aspects of human colostrum and milk. I. Distribution characteristics and concentrations of immunoglobulins at different times after the onset of lactation. *The Journal of Pediatrics*, 92 (4): 546-9, 1978.
- ORAM, J.D. & REITER, B. The inhibition of streptococci by lactoperoxidase, thiocyanate and hydrogen peroxide. *Biochemistry Journal*, 10: 373, 1966.
- PITT, J. Breast milk leukocytes. *Pediatrics*, 58 (5): 769-70, 1976.
- PORTER, P. Immunoglobulin mechanisms in health and nutrition from birth to weaning. *Proceedings of the Nutrition Society*, 35 (3): 273-82, 1977.
- QUAST, D.G. Liofilização, princípios e aplicação. *Tecnologia de Alimentos e Bebidas*, (11): 22, 24, 26, 28-29, 1964.
- RAPTOPOULOU-GIGI, M.; MARWICK, K. & McCLELLAND, D.B.L. Antimicrobial proteins in sterilized human milk. *British Medical Journal*, 1 (6052): 12-4, 1977.

- REDDY, V.; BHASKARAM, C.; RAGHURAMULU, N. & JAGADEESAN, V.
Antimicrobial factors in human milk. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 66 (2): 229-32, 1977.
- REYNOLDS, D.W.; STAGNO, S.; HOSTY, T.S.; TILLER, M. & AL
FORD, Jr. C.A. Maternal cytomegalovirus excretion and peri-
natal infection. *The New England Journal of Medicine*, 289
(1): 1-5, July, 1973.
- ROSS, C.A.C. & DAWES, E.A. Resistance of the breast fed infant
to gastro-enterites. *The Lancet*, 15: 994-8, May, 1954.
- RUEDA, E.P. Os aspectos práticos do aleitamento ao seio. *Anais*
Nestlé. Amamentação Materna. São Paulo, (103): 80-9, set.
1979.
- SALTON, M.R.J. The properties of lysosyme and its action on
microorganisms. *Bacteriological Review*, 21: 82-99, 1957.
- SEGRE, C.A.M.; ANDRADE, A.S.; SILVA, E.; GRECCO, S.P. &
GUERRA, R.B. Estudo da colonização bacteriana do recém-
nascido em alojamento conjunto. *Jornal de Pediatria*, 50(4):
118-22, 1981.
- SMOLELIS, A.N. & HARTSELL, S.E. The determination of lysosy-
me. *The Journal of Bacteriology*, 58: 731-6, 1949.
- STEPHENS, S.; DOLBY, J.M.; MONTREUIL, J.; SPIK, G. Diffe-
rences in inhibition of the growth of commensal and ente-
ropathogenic strains of *Escherichia coli* by lacto transfer-
rin and secretory immunoglobulin A isolated from human milk.
Immunology, 41: 597-603, 1980.
- STOLIAR, O.A.; KANIECKI-GREEN, E.; PELLEY R.P. & KLAUS, M.
H. Secretory IgA against enterotoxins in breast-milk. *The*
Lancet, 1 (7972): 1258-61, 1976.
- SVIRSKY-GROSS, S. Pathogenic strains of coli (O,111) among
prematures and the use of human milk in controlling the
outbreak of diarrhea. *Annales Paediatrici*, 190: 109-15,
1958.

- TAYLOR, L.E. & WORTHINGTON, B.S. Orientação para mães lactentes. In: Worthington, B.S.; Vermeerch, J. & Williams, S. R. *Nutrição na gravidez e na lactação*. Rio de Janeiro, Interamericana, 1980. p. 124-140.
- THE SPECIAL care of human milk. *British Medical Journal*, 2 (6140): 781-2, 1978.
- THEVENOT, M. As técnicas do frio e da liofilização. *Tecnologia de Alimentos e Bebidas*, (15): 41-6, 1945.
- TOMASI, T.B. & BIENSTOCK, J. Secretory immunoglobulins. *Advanced in Immunology*, 9: 1, 1968.
- TORRES-GOITIA, J.; FERNÁNDEZ, F. P.; FERREIRA, S. M.; RIZZADINI, P. M & FERNÁNDEZ P. R. Estudios en lactancia materna. I. Resistencia de la leche materna a la contaminación bacteriana. *Boletín Medico Del Hospital Infantil*, 36 (4): 599-604, 1979.
- UNICEF. Audio-visual para os responsáveis pela tomada de decisões no governo brasileiro e..., Brasília, UNICEF/INAN, 1980. 160 diapositivos col. audio-cassete, 24 min., texto.
- VILLELA, G.G.; BACILA, M. & TASTALDI, H. *Bioquímica*. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan; São Paulo, Ed. da Universidade de São Paulo, 1976. p. 596.
- WEICHSELBAUM, T.E. An accurate and rapid method for the determination of protein in small amount of blood serum and plasma. *American Journal of Clinical Pathology Technique*, 10: 40, 1946.
- WIDDOWSON, E.M. Absorption and excretion of fat, nitrogen, and minerals from "filled" milks by babies one week old. *The Lancet*, 11: 1099-106, 1965.
- WILKINSON, B.; MARKS, K.H.; GAMSU, H.R. & CUNLIFFE, A.C. Stool bacteria in low birth weight (LBW) infants: changes with milk formula. *Pediatric Research*, 10: 361, 1976.

- WILLIAMSON, S.; HEWITT, J.H.; FINUCANE E. & GAMSU, H. R.
Organization of bank of raw and pasteurized human milk for neonatal intensive care. *British Medical Journal*, 1: 393-6, Feb., 1978.
- WYATT, R.G. & MATA, L.J. Bacteria in colostrum and milk of Guatemalan indian women. *The Journal of Tropical Pediatrics*, 15: 159-62, 1969.
- WYATT, R.G.; GARCIA, B.; CÁCERES, A. & MATA, L.J. Immuno-globulins and antibodies in colostrum and milk of Guatemalan mayan women. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 22 (4): 629-44, 1972.
- WORTHINGTON, B.S. Lactação, leite humano e considerações nutricionais. In: Worthington, B.S. Vermeersch, J.; Williams, S.R. *Nutrição na gravidez e na lactação*. Rio de Janeiro, Interamericana, 1980. p. 106-123.

A P Ê N D I C E S

MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE SAÚDE FEDERAL

002060

Circular 035 175/DINSAMI

E. 02/8/75

Diretor da Divisão Nacional de Saúde Materno-Infantil

Assunto: Instalação de Banco de leite

Senhor Secretário:

O Ano Internacional da Criança serviu para uma tomada de posição efetiva no sentido de dar maior atenção ao grupo. Esta Divisão leva a V.Exa. uma sugestão que irá caracterizar uma campanha a ser desenvolvida a nível nacional a fim de melhorar as condições e esperança de vida para recém-natos, prematuros e de baixo peso que povoam os berçários do país.

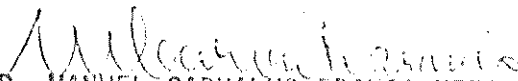
Nas capitais dos Estados e dos Territórios ou em cidades onde exista uma infra-estrutura de saúde, primordialmente, nas maternidades, poder-se-á instalar um Banco de leite, com custo operacional baixo mediante o emprego de um pequeno capital para compra de um freezer, uma bomba de leite, mamadeiras e chucas.

Os recursos para aquisição deste material poderão ser utilizados da verba repassada a essa Secretaria, através da rubrica 4322.01 - Despesa de Capital.

Em anexo, orientação para montagem e operacionalização de Banco de leite humano.

Espero que a sugestão ora apresentada venha contribuir para solucionar um grave problema dos berçários das maternidades brasileiras.

Ao ensejo, renovo a V.Exa. protestos de estima e distinta consideração.


DR. MANUEL CARVALHO BRANCO NETO
Diretor da DINSAMI

C. M. Sr.

DR.

DR. Secretário de Saúde do

Apêndice 2

Critérios adotados para codificação do questionário

1. Dados sobre a coleta

1.1. Local de coleta:

Q. P.	Quarto da parturiente
S. A.	Sala de amamentação

1.2. Grupos de doadoras

G. 1.	Grupo 1
G. 2.	Grupo 2

1.3. Procedimento utilizado para a limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

D	- Desinfecção com solução "Milton" (durante 15 minutos)
E	- Esterilização em autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

2. Dados sobre as doadoras:

Categoria social

P	- Previdenciárias
I	- Indigentes

Tipo de parto:

N	- Normal
C	- Cesárea
O	- Outros

Doenças durante a gravidez:

N	- Não
NS	- Não sei
S	- Sífilis
T	- Tuberculose
D	- Diabetes
E	- Epilepsia
O	- Outras

Complicações após o parto:

N	- Não
D	- Deiscência
HU	- Hérnia Umbilical
I	- Infecção períneo-vulvo vaginal
M	- Miometrites
P	- Parametrites
HP	- Hemorragias Puerperais

Patologia da mama após o parto:

N	- Não
F	- Fissuras
Fe	- Feridas
R	- Retração do mamilo
O	- Outras

Uso de drogas (corticóides, antibióticos):

S	- Sim
N	- Não

Período em que se procedeu a coleta do colostro:

1	- até 24 horas após o parto
2	- 25 a 48 horas após o parto
3	- 2 a 3 dias após o parto
4	- 3 a 4 dias após o parto

Apêndice 3: Questionários

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 10/01/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x					
2.2. Idade	20	24	23	26	21					
2.3. Número de partos	1	1	2	4	2					
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P					
2.5. Tipo de parto	C	N	C	N	N					
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	NS	N	N					
2.7. Complicações pós-parto	D	N	N	N	N					
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	F	N	N					
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	N	N	N	N					
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	2	2	2	3					
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	30	40	30	40	60					

3. Volume total: 200 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 23/01/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x	x	x			
2.2. Idade	25	20	23	22	22	24	32			
2.3. Número de partos	3	3	3	5	1	3	7			
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P	P	P			
2.5. Tipo de parto	C	C	N	N	C	N	N			
2.6. Doenças durante a gravidez	E	N	D	N	N	N	N			
2.7. Complicações pós-parto	N	HU	N	N	N	N	N			
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	N	N	N	N	N			
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	S	S	N	N	N	N			
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	3	2	3	3	3	2			
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	5	5	10	20	10	10	40			

3. Volume total: 100 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 29/01/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x	x	x			
2.2. Idade	14	18	30	28	23	19	20			
2.3. Número de partos	1	1	2	2	6	1	1			
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P	P	P			
2.5. Tipo de parto	N	N	C	N	C	N	N			
2.6. Doenças durante a gravidez	NS	N	N	N	N	N	N			
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N	N	N	N	N			
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N	F	N	N	N	N			
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N	N	N	N	N	N			
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	2	2	2	2	2	1			
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	20	20	10	20	10	15	5			

3. Volume total: 100 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 11/02/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.
S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.
G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D
E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x					
2.2. Idade	26	26	17	29	26					
2.3. Número de partos	2	3	1	5	5					
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P					
2.5. Tipo de parto	N	N	N	N	C					
2.6. Doenças durante a gravidez	D	N	N	N	N					
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N	N	N					
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N	N	N	R					
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	N	N	N	N					
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	1	2	2	3					
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	40	10	30	15	5					

3. Volume total: 100 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 29/02/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x	x				
2.2. Idade	32	23	37	38	30	29				
2.3. Número de partos	1	3	4	1	4	8				
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P	P				
2.5. Tipo de parto	N	N	C	N	C	N				
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	NS	N	N	N				
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N	N	HP	N				
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N	N	N	F	N				
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N	N	N	S	N				
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	3	2	4	3	4	3				
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	20	30	20	20	10	100				

3. Volume total: 200 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 03/03/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x	x				
2.2. Idade	17	28	25	32	22	25				
2.3. Número de partos	1	2	3	4	2	1				
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P	P				
2.5. Tipo de parto	N	C	N	N	N	N				
2.6. Doenças durante a gravidez	S	N	N	N	N	N				
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N	N	N	N				
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N	N	N	N	N				
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N	N	N	N	N				
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	2	4	4	2	4				
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	60	20	40	50	20	50				

3. Volume total: 240 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 07/03/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2.1. Número da doadora	x	x	x	x	x	x	x	x		
2.2. Idade	31	19	24	23	28	35	20	23		
2.3. Número de partos	2	2	1	3	2	1	2	3		
2.4. Categoria social	P	P	P	P	P	P	P	P		
2.5. Tipo de parto	C	N	C	N	N	N	N	N		
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	T	N	N	N	N	N		
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N	N	N	N	N	N		
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	N	N	N	N	N	N		
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N	S	N	N	N	N	N		
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	4	1	1	3	2	1	2	3		
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	50	10	5	50	20	10	10	50		

3. Volume total: 205 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 26/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x							
2.2. Idade	21	32	27							
2.3. Número de partos	3	4	3							
2.4. Categoria social	P	P	P							
2.5. Tipo de parto	N	C	N							
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	N							
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N							
2.8. Patologia da mama pós-par_ to	N	R	N							
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	S	N							
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	3	3	3							
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	40	10	10							

3. Volume total: 60 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 27/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x								
2.2. Idade	32	27								
2.3. Número de partos	7	3								
2.4. Categoria social	P	P								
2.5. Tipo de parto	N	C								
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N								
2.7. Complicações pós-parto	N	N								
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N								
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N								
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	3								
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	50	20								

3. Volume total: 70 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 22/01/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x						
2.2. Idade	20	25	23	32						
2.3. Número de partos	2	2	2	3						
2.4. Categoria social	I	I	I	I						
2.5. Tipo de parto	C	C	N	N						
2.6. Doenças durante a gravidez	S	N	N	N						
2.7. Complicações pós-parto	I	D	N	N						
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N	N	N						
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	S	N	N						
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	3	1	2						
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	5	5	10	80						

3. Volume total: 100 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 05/02/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.
S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.
G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D
E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x	x	x				
2.2. Idade	27	27	33	18	20	31				
2.3. Número de partos	4	3	8	1	1	3				
2.4. Categoria social	I	I	I	I	I	I				
2.5. Tipo de parto	C	C	N	N	N	N				
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	N	N	N	N				
2.7. Complicações pós-parto	D	N	HU	N	N	N				
2.8. Patologia da mama pós-par-to	F	F	R	N	N	N				
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	N	S	N	N	N				
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	2	2	1	2	4				
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	5	5	5	5	10	50				

3. Volume total: 80 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 16/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x								
2.2. Idade	17	19								
2.3. Número de partos	1	1								
2.4. Categoria social	I	I								
2.5. Tipo de parto	N	N								
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N								
2.7. Complicações pós-parto	N	HU								
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N								
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N								
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	3	2								
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	45	30								

3. Volume total: 75 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 17/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x							
2.2. Idade	15	17	33							
2.3. Número de partos	1	1	9							
2.4. Categoria social	I	I	I							
2.5. Tipo de parto	N	N	N							
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	N							
2.7. Complicações pós-parto	N	N	I							
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	N							
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N	S							
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	3	2							
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	20	25	30							

3. Volume total: 75 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 18/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x							
2.2. Idade	15	17	16							
2.3. Número de partos	1	1	1							
2.4. Categoria social	I	I	I							
2.5. Tipo de parto	N	N	N							
2.6. Doenças durante a gravidez	N	S	N							
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N							
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	N							
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	S	N							
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	4	4	1							
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	20	20	10							

3. Volume total: 50 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 19/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D.

E.

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x	x						
2.2. Idade	33	19	16	27						
2.3. Número de partos	9	2	2	2						
2.4. Categoria social	I	I	I	I						
2.5. Tipo de parto	N	N	C	N						
2.6. Doenças durante a gravidez	N	NS	N	N						
2.7. Complicações pós-parto	I	N	N	N						
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	F	N						
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	N	N	N						
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	4	3	2	1						
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	30	20	5	5						

3. Volume total: 60 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 22/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x							
2.2. Idade	35	18	26							
2.3. Número de partos	5	2	1							
2.4. Categoria social	I	I	I							
2.5. Tipo de parto	N	N	C							
2.6. Doenças durante a gravidez	N	N	N							
2.7. Complicações pós-parto	N	N	HU							
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	F							
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	N	S							
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	2	2							
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	50	10	2							

3. Volume total: 62 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 23/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x								
2.2. Idade	18	35								
2.3. Número de partos	2	5								
2.4. Categoria social	I	I								
2.5. Tipo de parto	N	N								
2.6. Doenças durante a gravidez	D	N								
2.7. Complicações pós-parto	N	N								
2.8. Patologia da mama pós-par to	N	N								
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	S	N								
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	2	1								
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	30	25								

3. Volume total: 55 ml

Questionário

1. Dados sobre a coleta do colostro

1.1. Data de coleta: 24/04/80

1.2. Local de coleta:

x

Q. P.

S. A.

1.3. Grupo de doadoras:

x

G. 1.

G. 2.

1.4. Procedimento utilizado para limpeza dos dispositivos da bomba ordenhadeira.

x

D

E

2. Dados sobre as doadoras

2.1. Número da doadora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	x	x	x							
2.2. Idade	25	18	31							
2.3. Número de partos	1	2	7							
2.4. Categoria social	I	I	I							
2.5. Tipo de parto	C	N	N							
2.6. Doenças durante a gravidez	N	D	N							
2.7. Complicações pós-parto	N	N	N							
2.8. Patologia da mama pós-parto	N	N	N							
2.9. Uso de drogas (corticóides, antibióticos)	N	S	N							
2.10. Período em que se procedeu a coleta do colostro	3	2	2							
2.11. Volume coletado - (ml) (aproximado)	20	20	30							

3. Volume total: 70 ml

Apêndice 4

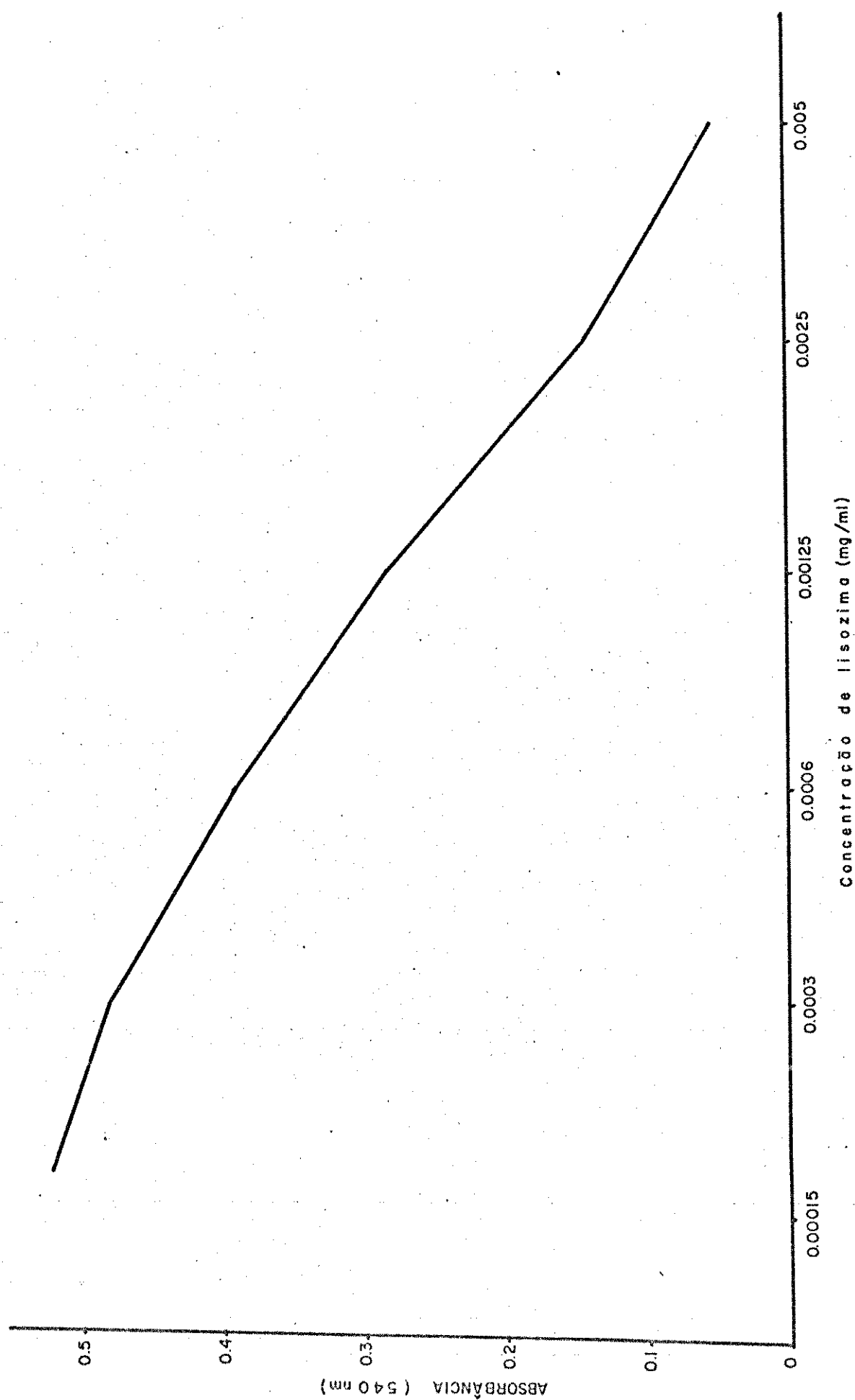


FIGURA 12 - PROJEÇÃO DA CURVA PADRÃO PARA DETERMINAÇÃO DE LISOZIMA.