

Normas **Técnicas**

BLH-IFF/NT 30.21

**Leite Humano Ordenhado:
Determinação do Crematócrito**



Origem

Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano – Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira / Fundação Oswaldo Cruz / Ministério da Saúde

Autores

João Aprígio Guerra de Almeida
Franz Reis Novak
Vander Guimarães

Revisores

Andreia Fernandes Spinola
Danielle Aparecida da Silva
Jonas Borges da Silva
Maíra Domingues Bernardes Silva
Mariana Simões Barros
Miriam Oliveira dos Santos
Mônica Barros de Pontes

Designer Gráfico

Chester Robison Pereira Martins

1ª publicação: BLH-IFF/NT 30.05: Leite Humano Ordenhado: Determinação do Creatócrito.

1ª revisão: BLH-IFF/NT 30.11

2ª revisão: BLH-IFF/NT 30.21

Palavras-chaves

Leite humano Ordenhado Cru. Creatócrito. Valor energético. Análise Físico-química.

Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano
Programa de Certificação Fiocruz para Bancos de Leite Humano
Sede: IFF/Fiocruz/ Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite Humano.
Avenida Rui Barbosa 716, 1º andar, Flamengo, Rio de Janeiro - RJ, cep: 22250-020
Contatos:
(21) 2554-1703 - Banco de Leite Humano
(21) 2554-1889 - Secretaria Executiva rBLH
email: rblh@fiocruz.br / Portal: www.rblh.fiocruz.br



SUMÁRIO

1. Objetivo

2. Documentos Complementares

3. Definições

4. Fundamentos

5. Condições Gerais

6. Condições Específicas

7. Referências Bibliográficas

1. Objetivo

Esta Norma Técnica tem por objetivo estabelecer os procedimentos e critérios para determinação do valor estimado do conteúdo energético do leite humano ordenhado, visando a garantia da qualidade em Bancos de Leite Humano e sua certificação.

2. Documentos Complementares

Na elaboração desta Norma Técnica foram consultados:

REDE BRASILEIRA DE BANCOS DE LEITE HUMANO. BLH-IFF/NT 11.21: Higiene e Conduta: Funcionários. Rio de Janeiro, 2021.

REDE BRASILEIRA DE BANCOS DE LEITE HUMANO. BLH-IFF/NT 21.21: Recepção do Leite Humano Ordenhado Cru. Rio de Janeiro, 2021.

REDE BRASILEIRA DE BANCOS DE LEITE HUMANO. BLH-IFF/NT 23.21: Seleção e Classificação do Leite Humano Ordenhado Cru. Rio de Janeiro, 2021.

REDE BRASILEIRA DE BANCOS DE LEITE HUMANO. BLH-IFF/NT 51.21: Biossegurança em Bancos de Leite Humano e Postos de Coleta de Leite Humano. Rio de Janeiro, 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 171, de 04 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Leite Humano. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 04 set. 2006.

3. Definições

Para os efeitos desta Norma Técnica, aplicam-se as seguintes definições:

3.1. **Crematócrito:** técnica analítica que permite o cálculo estimado do conteúdo energético do leite humano ordenhado.


3.2. **Creme:** é a porção sobrenadante obtida a partir da centrifugação do leite.

4. Fundamentos

O leite humano reúne em sua composição mais de 250 substâncias diferentes, dispostas de forma hierarquizada e compartimentalizada, integrando três subsistemas ou frações: emulsão, suspensão e solução.

A fração emulsão congrega os constituintes lipossolúveis – gordura, óleos, vitaminas, pigmentos lipossolúveis e alguns ácidos graxos livres. Praticamente todos os constituintes lipossolúveis, ou sua grande maioria, estão presentes na forma de glóbulos, envoltos por uma membrana fosfolipoproteica. Essa membrana é a mesma da célula alveolar da glândula mamária, e é responsável por dar estabilidade à emulsão.

A fração suspensão é constituída de micelas de caseína, formadas por subfrações, como a κ -caseína, γ -caseína, α -caseína, α s1-caseína, dentre outras. O sistema caseína forma uma suspensão coloidal do tipo gel, cuja estabilidade é conferida pela fração κ -caseína que envolve a micela.



A quase totalidade do cálcio e do fósforo presentes no leite humano encontra-se associado às micelas, quimicamente ligadas às frações que as integram. A fração solução reúne a água, principal constituinte do leite humano, que apresenta concentração de 87% p/v, bem como os demais hidrossolúveis, a exemplo das proteínas do soro, sais minerais, carboidratos e a maior parte dos imunobiológicos presentes no leite humano.

Essas três frações apresentam uma relação de proporcionalidade entre si, decorrente do próprio movimento de síntese do leite humano. Dessa maneira, a variação na concentração de um dos constituintes do leite sempre acarreta alteração nos demais, podendo essa relação de proporcionalidade se dar de forma direta ou indireta, dependendo dos constituintes considerados.

Os constituintes lipossolúveis, que integram a fração emulsão, por exemplo, tendem a se relacionar de forma inversamente proporcional com as proteínas do soro do leite ou proteínas solúveis, principais representantes dos imunobiológicos. Tal tendência permite afirmar que quanto maior o conteúdo de gordura maior será o aporte energético e menor será a concentração de imunobiológicos.

Uma vez entendida a possibilidade de variação dos macros constituintes do leite humano em termos gerais e suas respectivas implicações em termos de mudanças na composição, é necessário estar atento quanto aos modos de detecção dessas modificações.

Dentre as várias alternativas, pode ser citada a técnica que se fundamenta nas diferenças de densidade dos constituintes do leite.

A fração emulsão congrega os componentes de menor densidade, resultando em valor médio situado na ordem de $0,9\text{g/cm}^3$. Por essa razão, ao se submeter o leite à centrifugação, a fração emulsão tende a ascender no tubo e separar-se dos demais constituintes. Contudo, ao sofrer a ação da força centrífuga, a fração emulsão arrasta consigo as micelas de caseína, formando um aglomerado denominado creme, que se separa do soro do leite ou fração hidrossolúvel.

Estudos acerca da proporcionalidade dos constituintes do leite humano permitiram o estabelecimento da relação matemática entre creme, soro, gordura e conteúdo energético. Assim, o leite humano com conteúdo energético baixo é rico em substâncias protetoras, sobretudo as que se destacam pela proteção química e biológica exercidas no trato digestivo do lactente, diante de tais evidências podemos considerar que os resultados apresentados devem ser considerados no momento da distribuição do leite humano pasteurizado, direcionando a escolha de um produto que atenda às necessidades nutricionais do receptor.

5. Condições Gerais

5.1. As análises de determinação do teor de gordura fazem parte das análises físico-químicas responsáveis pela classificação do leite humano ordenhado.

5.2. A determinação do teor de gordura é um dos fatores a serem utilizados para o direcionamento do produto processado em um banco de leite humano para recém nascidos de alto e médio risco, internados em UTI Neonatais.

5.3. O profissional deve estar paramentado, desde o início do processo, conforme o estabelecido na Norma Técnica BLH-IFF/NT 11.21: Higiene e Conduta: Funcionários.



6. Condições Específicas

6.1. A determinação do crematócrito deve ser realizada imediatamente após as análises sensoriais do leite humano ordenhado.

6.2. Os seguintes materiais são utilizados na determinação do crematócrito:

6.2.1. Pipetador;

6.2.2. Pipetas sorológicas;

6.2.3. Estante para suporte, revestida em PVC, para 24 ou 72 tubos;

6.2.4. Centrífuga para micro hematócrito com timer;

6.2.5. Agitador tipo vórtex;

6.2.6. Tubos de ensaio (5mL);

6.2.7. Tubos capilares com ou sem heparina (75mm x 1,0mm x 1,5mm);

6.2.8. Banho-maria termostatzado, capaz de manter a temperatura de 40°C conforme procedimento especificado;

6.2.9. Massa para selar capilar ou bico de Bunsen para fechar;

6.2.10. Régua graduada em frações de 1mm.

6.3. Determinação do valor energético: Crematócrito:

6.3.1. No momento da coleta de amostra para as análises físico-químicas (determinação acidez Dornic e de crematócrito), foram coletados 5mL de amostra, onde 4mL foram utilizados na análise de acidez Dornic e o último 1mL será utilizado na determinação do conteúdo energético do leite humano ordenhado;

6.3.2. Após a coleta das amostras para a acidez Dornic, manter a amostra de 1mL restante no tubo de ensaio, em estante revestida de PVC, em banho-maria a 40°C durante 15 minutos;

6.3.3. Uma vez transcorrido o tempo de 15 minutos, coletar, de forma independente, 3 alíquotas de 75 microlitros, com auxílio de tubo capilar, de cada uma das amostras de leite humano ordenhado;

6.3.4. Vedar uma das extremidades, com auxílio de massa para selar capilar ou utilizando o bico de busen;

6.3.5. Dispor os capilares na centrífuga, posicionando as extremidades vedadas na direção da força centrífuga (encostado no anel de borracha do prato da centrífuga);

6.3.6. Caso não haja amostras suficientes para preencher todas as lacunas do prato da centrífuga, posicionar os capilares sempre três a três, em diagonal, de modo a equilibrar o prato da centrífuga;

6.3.7. Caso a quantidade de capilares não permita o equilíbrio do prato da centrífuga, utilizar capilares preenchidos com água;

6.3.8. Uma vez que o prato da centrífuga já esteja com as amostras, tampe o mesmo e inicie a centrifugação por 15 minutos, observando a velocidade que o fabricante da centrífuga indica para a realização do teste de micro-hematócrito;

6.3.9. Proceder à leitura após a centrifugação:

6.3.9.1. Após o tempo de centrifugação, retirar os capilares do equipamento com atenção, pois os tubos capilares não são identificados e por isso ao retirá-los, observar a mesma ordem de que foram colocados, uma vez que a sequência de três capilares corresponde a uma amostra;

6.3.9.2. Duas colunas poderão ser observadas: na parte superior fica a coluna de creme e na inferior a coluna de soro;

6.3.9.3. Utilizar a régua milimetrada para medir a coluna total (creme + soro) e a coluna de creme;

6.3.9.4. Os valores obtidos serão utilizados nas fórmulas abaixo:

a. Teor de Creme:

$\text{Coluna de Creme (mm)} \times 100 \div \text{Coluna Total (mm)} = \% \text{ de Creme}$

b. Teor de Gordura:

$(\% \text{ de creme} - 0,59) \div 1,46 = \% \text{ de Gordura}$

c. Conteúdo Energético Total:

$(\% \text{ de creme} \times 66,8 + 290) = \text{Kcal/litro}$

6.3.10. Resultados:

6.3.10.1. Como para cada frasco de leite avaliado colheram-se três alíquotas em tubo capilar, o resultado final corresponde à média aritmética dos valores encontrados;

6.3.10.2. Ao final do processo, anotar em planilha o valor obtido de cada tubo capilar e sua média final. O valor do teor calórico também deverá ser registrado no rótulo do frasco de leite humano pasteurizado.

6.4. Os resultados obtidos nas análises de determinação do valor energético do leite humano ordenhado devem ser registrados com instrumentos próprios para essa finalidade (vide Anexo desta Norma), para que se possa realizar a rastreabilidade de intercorrências e a consequente melhoria dos processos.

7. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, J. A. G., 1999. Amamentação: Um Híbrido Natureza-Cultura. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

LUCAS, A.; GIBBS, J. A. H.; LYSTER, R. L. J. & BAUM, J. D., 1978. Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *British Medicine Journal*, 1:1018-1020.

SILVA, L. R. & ALMEIDA, J. A. G., 2004. Leite materno como fator de proteção contra as doenças do trato digestivo. In: *Urgências Clínicas e Cirúrgicas em Gastroenterologia e Hepatologia Pediátricas* (SILVA, L. R., org.), pp. 951-957, São Paulo: Editora Medsi.

VÁZQUEZ-ROMAN, S.; ALONSO-DÍAZ, C; GARCÍA-LARA, N.R; ESCUDER-VIECO, D. e PALLÁS-AFONSO, C.R. Brief Report: Effect of freezing on the “crematocrit” measurement of the lipid content of human donor milk. *Anales de Pediatría (English Edition)*, volume 81, Issue 3, September 2014, pages 185-88.

8. Anexos



Programa de Certificação Fiocruz em Bancos de Leite Humano para o Sistema Único de Saúde (PCFioBLH-SUS)

BLH-IFF/PCFioBLH 0003

Formulário para Seleção e Classificação do Leite Humano Ordenhado Cru

Nº Frasco	Matrícula Doadora	Idade do LHO	Volume Estimado	Análise Sensorial				Análises Físico-Químicas															
				Embalagem	Sujidade	Cor	Flavor	Acidez Dornic				Crematócrito											
								AC1	AC2	AC3	Fator Dornic	°D	CT1	CT2	CT3	CC1	CC2	CC3	Kcal/L				

Onde

Análise sensorial deverá ser identificada como conforme (C) e não conforme (NC)

Análises Físico-químicas:

Acidez Dornic (AC) será preenchido com os mililitros gastos em cada titulação

Fator Dornic: é o valor a ser multiplicado pela média dos valores obtidos na solução Dornic

Crematócrito onde CT é a coluna total expressa em mm e CC é a coluna de creme expressa em milímetros.

Programa de Certificação Fiocruz em Bancos de Leite Humano para o Sistema Único de Saúde (PCFioBLH-SUS)

BLH-IFF/PCFioBLH 007

Formulário para Registro Diário dos Valores Obtidos na Determinação do Crematócrito do Leite Humano Ordenhado Cru

Data	Frequência Diária de Valores Obtidos na Determinação do Crematócrito				Total	Responsável
	< 500 kcal/L	500 - 700 kcal/L	700 - 750 kcal/L	≥750 kcal/L		
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
Total						



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz