

Natália Rodrigues Borges
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Tocantins E-mail: nataliarodriguesborges@hotmail.com

Juliana Fonseca Moreira da Silva
Doutora em Microbiologia e Docente dos Programas de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos e Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Tocantins. E-mail: julianafmsilva@uft.edu.br

Renata Junqueira Pereira
Doutora em Ciência dos Alimentos, Docente do Mestrado em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Tocantins. E-mail: renatajunqueira@uft.edu.br

SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DO LEITE HUMANO DESCARTADO POR SUJIDADE, NO BANCO DE LEITE HUMANO DE PALMAS – TOCANTINS

MICROBIOLOGICAL SAFETY OF HUMAN MILK DISCHARGED BY SUBJECT, IN THE HUMAN MILK BANK OF PALMAS – TOCANTINS

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade e a segurança microbiológica do leite cru, recebido pelo Banco de Leite Humano do Hospital e Maternidade Pública Dona Regina, e descartado por conter sujidade, durante a análise sensorial do processamento. Foram realizadas análises microbiológicas em 25 amostras de leite humano descartado por sujidade. Cada amostra foi filtrada para retirada da sujidade e subdividida em duas porções (crua e pasteurizada). As análises microbiológicas foram realizadas em cada uma das porções, com e sem pasteurização. As amostras foram submetidas à avaliação de indicadores de contaminação: números mais prováveis de Coliformes Totais e Termotolerantes e presença de E. coli. Do total de amostras analisadas, 28% apresentaram resultados positivos na fração crua, para contaminação por coliformes totais, no teste presuntivo. Essas amostras também apresentaram produção de gás no teste confirmativo para coliformes totais. O teste confirmativo para termotolerantes revelou 16% das amostras com presença de termotolerantes. Os resultados da enumeração de coliformes totais e termotolerantes variaram de $< 0,3$ a > 110 NMP/mL. A filtragem do LH seguida de pasteurização mostrou-se uma alternativa viável e muito eficaz, com negatização dos testes microbiológicos para toda as amostras. Retirar a sujidade por meio da filtração e pasteurizar o leite humano é uma alternativa segura, que certamente diminuirá o volume de leite desprezado nos Bancos de Leite Humano.

PALAVRAS-CHAVE: Leite Humano. Banco de Leite Humano. Microrganismos

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the quality and microbiological safety of raw milk, received by the Human Milk Bank of the Hospital and Public Maternity Dona Regina, and discarded for containing dirt, during the sensorial analysis of the processing. Microbiological analyzes were performed on 25 samples of human milk discarded by dirt. Each sample was filtered to remove the dirt and subdivided into two portions (raw and pasteurized). Microbiological analyzes were performed in each of the portions, with and without pasteurization. The samples were submitted to the evaluation of contamination indicators: most probable numbers of Total and Thermotolerant Coliforms and presence of *E. coli*. From the total of analyzed samples, 28% presented positive results in the crude fraction, for contamination by total coliforms, in the presumptive test. These samples also showed gas production in the confirmatory test for total coliforms. The confirmatory test for thermotolerants revealed 16% of the samples with thermotolerant presence. The results of enumeration of total and thermotolerant coliforms ranged from <0.3 to > 110 MPN/mL. LH filtration followed by pasteurization proved to be a viable and very effective alternative, with negative microbiological tests for all samples. Removing dirt by filtration and pasteurizing human milk is a safe alternative, which will certainly decrease the volume of milk despised in the Human Milk Banks.

Keywords: Human Milk. Human Milk Bank. Microorganisms.

INTRODUÇÃO

A relevância do leite humano (LH) é indiscutível, tanto para o recém-nascido (RN), quanto para o lactente, uma vez que este contém, em frações adequadas, os nutrientes necessários para a fase inicial da vida, apresentando melhor digestibilidade no trato intestinal ainda imaturo. Proporciona também nutrição de alta qualidade para a criança, contribuindo para seu crescimento e desenvolvimento, com impacto na redução da morbimortalidade infantil. O número de mortes que poderiam ser evitadas pela amamentação excede 60% para os casos de infecção respiratória e 80% para os casos de diarreia, as duas principais causas de óbito após o período neonatal precoce (GALVÃO; VASCONCELOS; PAIVA, 2006).

Avaliando-se prematuros hospitalizados, observou-se menor incidência de enterocolite necrosante naqueles alimentados, exclusiva ou parcialmente, com LH, em relação aos bebês alimentados com fórmulas (LUCAS; FEWTRELL; MORLEY, 1996). Os prematuros alimentados com LH, quando comparados àqueles alimentados com fórmulas lácteas, demonstram preeminências no desenvolvimento psicomotor aos 18 meses de idade (LUCAS et al., 1984; SCHANLER, 1995).

Alguns casos considerados especiais, como prematuridade, distúrbios nutricionais e alergias a proteínas heterólogas, incentivaram a criação do Banco de Leite Humano (BLH) para atender a essas demandas (BRASIL, 2008).

O BLH é uma associação especializada, incumbida da promoção e do incentivo ao aleitamento materno e da execução das atividades de coleta, processamento e controle de qualidade do colostro, leite de transição e leite maduro, para subsequente distribuição, sob prescrição de médico ou de nutricionista, a

crianças que dele necessitam (HINRICHSEN, 2004; BRITTO, 2002; BRASIL, 2006).

A FIOCRUZ (2003) estabelece alguns critérios para a seleção do leite doado aos BLHs, como: condições da embalagem, presença de sujidades, cor, off-flavor (sabor/odor fora do comum) e acidez Dornic. A presença de sujidade no LH exerce influência importante no volume de leite desprezado, pois o descarte se dá devido à presença de sujidades no leite, identificadas visualmente, que impossibilitam seu uso pelo BLH, contribuindo para o aumento do volume de descarte deste alimento. São exemplos de sujidades comumente encontradas no LH: pêlos, cabelos, fragmentos de pele, insetos, pedaços de papel, vidro, etc. Todo o conteúdo da embalagem em que se encontra a sujidade é descartado (SILVA, 2004).

Nas situações em que a mãe apresenta dificuldades para amamentar o filho, o leite coletado e processado em BLHs constitui-se como uma alternativa segura, que auxilia na sobrevivência e desenvolvimento da criança (POPPER et al., 2001).

A presença de pequenas sujidades no interior do frasco de LH doado pode não comprometer a sanidade microbiológica do produto final, uma vez que o leite passa por processo de pasteurização, que representa uma alternativa eficaz, praticada no campo da tecnologia de alimentos. Assim tal volume de leite, atualmente desprezado pelo BLH, pode ser utilizado com segurança para alimentar os recém-nascidos internados em UTI neonatais, aumentando sua sobrevida.

Nesse sentido, surgiu a necessidade de se estudar uma alternativa para maximizar o aproveitamento e utilização de LH doado e, após estudo do quantitativo de leite que era descartado pela simples presença de uma pequena sujidade no interior do frasco, surgiu o interesse em investigar a possibilidade de se utilizar esse leite (retirando a sujidade e pasteurizando o leite), para satisfazer a nutrição de dezenas de bebês.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta de LH foi realizada entre os meses de julho e outubro de 2017. Durante este período foram coletados frascos de LH cru congelado, doado por diferentes mulheres, descartados pela equipe do BLH, por presença de sujidade. Não foram incluídos na amostra leites com alterações de cor, em off-flavor (sabor/odor fora do comum) ou com acidez elevada.

O recolhimento de LH doado à equipe do BLH seguiu o procedimento de rotina, sendo realizado nos domicílios pelos funcionários treinados, nas condições técnicas praticadas normalmente pela equipe do banco.

Após a triagem realizada pela equipe, o leite doado que não atendeu aos requisitos da triagem organoléptica, apresentando sujidade, foi cedido para o presente estudo. Ao todo foram analisadas 25 amostras. O número de amostras foi definido pela quantidade de leite que poderia ser pasteurizada após a elaboração de uma curva de penetração de calor. Toda a sujidade presente no LH foi retirada por filtração.

Antecedendo o processo de pasteurização, foi elaborada a curva de penetração de calor específica para este estudo, tal como é realizado no beneficiamento do leite pelo BLH.

O equipamento utilizado foi um evaporador rotativo (usado como banho maria), modelo CE 835, marca CienlaB, com potência de 220V.

Foi utilizado um mesmo tipo de frasco para acondicionar cada uma das amostras, sendo este de vidro e com tampa plástica rosqueável, com capacidade máxima de 350 mL.

A curva de penetração de calor definida utilizou dois frascos na pasteurização do leite, contendo aproximadamente 100 mL de amostra em cada frasco, resultando em um tempo de pré-aquecimento igual a vinte minutos.

As amostras congeladas passaram por degelo, utilizando-se banho de gelo e controle da temperatura (máxima de 5°C). Posteriormente, em capela de fluxo laminar, foram filtradas e divididas em duas porções. A primeira porção foi inoculada crua e a segunda foi pasteurizada antes de ser inoculada. As amostras submetidas à pasteurização passaram pelo pré-aquecimento por 20 minutos, a partir de então se iniciou o período de letalidade térmica, ou seja, as amostras permaneceram à temperatura de 62,5°C por 30 minutos. Findado o tempo de letalidade térmica, os frascos foram resfriados até o leite atingir temperatura igual ou inferior a 5°C. O resfriamento procedeu-se imergindo os frascos em banho de gelo.

Após os testes microbiológicos, os remanescentes de leite cru e pasteurizado, foram transferidos para um coletor universal estéril (com capacidade de 80 mL), dentro de capela de fluxo laminar. Posteriormente, foram identificados e acondicionados em congelador, para repetir as análises, caso necessário.

Todos os aspectos éticos foram seguidos em relação ao termo de fiel depositário das informações de doação e em relação ao descarte do remanescente de leite humano. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Tocantins, sob o número 055/2015.

PESQUISA PARA COLIFORMES TOTAIS, TERMOTOLERANTES E E. COLI

Para a pesquisa de coliformes totais, termotolerantes e E. coli foi utilizada a metodologia de tubos múltiplos, com diluições de 10, 10-1 e 10-2, sendo realizadas nove repetições analíticas para cada uma das três diluições de cada fração. Foi utilizada a metodologia da American Public Health Association, descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (2002).

Foi realizada a contagem de coliformes totais e termotolerantes pela técnica do Número Mais Provável (NMP), descrita por Kornalki e Johnson (2001). Para tal, procedeu-se as diluições decimais (10, 10-1, 10-2), em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada estéril. A contagem de E. coli não ocorreu, pois, esta bactéria não foi encontrada nas amostras estudadas.

DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS

A técnica foi realizada inoculando-se 1 mL de cada amostra diluída anteriormente (10, 10-1, 10-2) em caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), em tubos de ensaio com tubos de Durham invertidos. Os tubos de ensaio inoculados foram incubados a 35°C por 24/48 horas, em estufa bacteriológica. Os tubos positivos (apresentaram crescimento com presença de gás no interior do tubo de Durham) foram transferidos, com o auxílio de alça de platina, para tubos de ensaio contendo caldo Verde Brilhante (VB), com tubos de Durham invertidos, e incubados novamente em estufa bacteriológica, à temperatura de 35°C, por até 48 horas. Os resultados foram expressos em NMP/mL, para contagem de coliformes totais.

A técnica utilizando o caldo LST é um teste presuntivo para coliformes totais. Para confirmar a presença destes, utilizou-se o caldo VB (teste confirmativo para coliformes totais).

DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Uma alçada dos tubos positivos para coliformes totais foi transferida para tubos contendo caldo E. coli (EC), que foram incubados em estufa bacteriológica, a 45°C, por até 24 horas. Os tubos que apresentaram crescimento, com produção de gás, foram considerados positivos para a presença de coliformes termotolerantes (teste confirmativo para coliformes termotolerantes).

DETERMINAÇÃO DE E. COLI

Foi retirada uma alçada dos tubos positivos para coliformes termotolerantes e estriada em ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Posteriormente, as placas foram incubadas a 35°C, por até 24 horas. Não houve formação de colônias típicas de E. coli neste estudo, portanto, os testes bioquímicos para confirmação (Indol, Teste de Vermelho de Metila (VM), teste de Voges-Proskauer (VP) e teste de citrato) não foram realizados.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O teste Qui-quadrado de Mc Nemar (McNemar, 1957) foi aplicado para testar a eficácia da pasteurização no teste presuntivo para coliformes, antes e após a pasteurização. As análises foram realizadas no software R Core Team, versão 2018, sendo a significância fixada em 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento da filtração foram identificados os tipos de sujidades presentes nas amostras. Das 25 amostras analisadas, 96% (n=24) apresentaram alguma sujidade retida no filtro.

Na Tabela 1 são elencados os tipos de sujidades encontrados nas amostras.

Tabela 1. Caracterização dos tipos de sujidades encontradas no leite humano analisado.

Tipo de Sujidade Apresentada	Número de amostras em que ocorreu	Percentual
Cílio	2	5,6
Fio de Cabelo	9	25
Fio de tecido	14	38,9
Fio de esponja de Aço	1	2,8
Poeira	5	13,9
Graveto	1	2,8
Material Plástico	1	2,8
Massa escura não identificada	3	8,4

Fonte: Autoras, 2018

A sujidade mais comumente encontrada foi o fio de tecido, seguida do cabelo humano. A contaminação por poeira também apresentou alta prevalência.

O período de seca no Estado é caracterizado por ventos fortes, que são meios de levar todos os tipos de sujidade para os domicílios, principalmente poeira e resquícios das queimadas, que também são muito comuns na maior parte do ano.

Com relação às sujidades identificadas, percebe-se que apesar de todo o trabalho realizado pela equipe do BLH, em relação às orientações de assepsia e paramentação no momento da coleta do leite, por meio do uso de toucas e gorros, essa ainda deixa a desejar, o que ficou evidenciado pela alta prevalência de contaminantes do corpo humano nas amostras.

Outras sujidades encontradas em grande parte das amostras foram os fios de tecido e poeira. O BLH orienta as doadoras a utilizarem vestuário apropriado e exclusivo quando a ordenha e coleta são realizadas em ambiente hospitalar, no BLH ou em posto de coleta de LH (BRASIL, 2008). No domicílio, a doadora não dispõe de vestimenta exclusiva para a ordenha e, considerando a alta prevalência de sujidades oriundas das vestimentas, faz-se necessário intervir, orientando sobre esse quesito na coleta domiciliar.

Outra orientação da equipe do BLH às doadoras que ordenham e coletam LH em domicílio é a escolha de um ambiente que não traga risco à qualidade microbiológica do leite ordenhado - evitar a coleta em banheiros e locais onde se encontram animais domésticos (BRASIL, 2004). Como orientação adicional, pode-se sugerir que o ambiente não seja muito ventilado, para evitar que vento leve poeira, ciscos e gravetos até o LH.

A avaliação da presença de sujidades deve ser realizada por analista capacitado, com o objetivo de determinar prováveis alterações que caracterizem o LH ordenhado como impróprio para consumo – leite que contenha corpo estranho no momento da avaliação (ALMEIDA, 1999; FIOCRUZ, 2003; SILVA, 2004).

Do total de amostras analisadas somente uma não apresentou corpo estranho retido no filtro e apesar de ser um número pequeno (1 amostra em 25) deve-se considerar que a falta de atenção do analista é um fator que contribui no descarte desnecessário de LH.

Dependendo do número de doações, são feitas até três pasteurizações por semana no BLH. Considerando que a cada pasteurização 1 frasco seja descartado por engano, ou seja, o descarte ocorra sem que o leite apresente corpo estranho, seriam desprezados aproximadamente 3,5 L de LH por mês, desnecessariamente.

Em relação às análises microbiológicas, do total de 25 amostras analisadas, 28% apresentaram resultados positivos na fração crua, para contaminação por coliformes totais, no teste presuntivo. Essas mesmas amostras também apresentaram produção de gás no teste confirmativo para coliformes totais.

O teste confirmativo para termotolerantes apresentou 16% de amostras com presença de termotolerantes.

Os resultados das leituras para os testes confirmativos para coliformes totais e termotolerantes são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Contagem pelo NMP de coliformes totais e termotolerantes em leite humano cru filtrado.

Amostra	Coliformes totais (NMP/mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/mL)
15	>110	2,0
19	>110	<0,3
20	0,91	<0,3
22	>110	2,0
23	>110	0,3
24	24	<0,3
25	15	2,1

Fonte: Autores/2018

Os resultados da enumeração de coliformes totais e termotolerantes (Tabela 2) variaram de < 0,3 a > 110 NMP/mL. É possível observar que no grupo dos coliformes totais houve maior NMP/mL, sendo que 57,1% das amostras contaminadas apresentaram uma contagem acima de 110 NMP/mL deste grupo coliforme. No grupo dos termotolerantes, os maiores NMP/mL foram observados em 42,85% das amostras contaminadas.

Ao apresentar amostras positivas no teste confirmativo de coliformes termotolerantes, passou-se para a etapa seguinte, com intuito de identificar *E. coli*. No entanto, não houve formação de colônias típicas desta bactéria neste estudo.

Todas as amostras recolhidas do BLH tiveram uma fração pasteurizada e foram posteriormente analisadas microbiologicamente. A pasteurização foi eficiente e não houve indicativo de contaminação em nenhuma das amostras pasteurizadas. O teste de Qui-quadrado de Mc Nemar confirmou a eficácia da pasteurização ($p= 0,0005$).

Castro (2006) analisou 60 amostras de LH cru, com 75% destas positivas para bactérias do grupo coliformes totais e 50% apresentando contaminação por *E. coli*.

No estudo feito por Serafini et al. (2003), das 194 amostras de LH ordenhado cru, 70,4% apresentaram microrganismos indicadores e/ou patogênicos, sendo 3 amostras (1,66%) contaminadas por *E. coli*. Vale salientar que as amostras de LH cru, utilizadas nos estudos de Castro (2006) e Serafini et al. (2003), foram coletadas após aprovação nas triagens organoléptica e de sujidade, porém apresentaram contaminação quando analisadas do ponto de vista microbiológico. Isso denota que a ausência de sujidades não garante a sanidade do leite ordenhado cru.

Nobre et al. (2015) analisaram 66 amostras de leite humano cru, reprovadas pela presença de sujidades, um banco de leite, e encontraram 34,8% positivas no teste presuntivo. Destas amostras, 82,6% foram positivas no teste confirmativo para coliformes totais, totalizando 28,8% do total de amostras. No teste confirmativo para termotolerantes 18% das amostras produziram gás no interior dos tubos.

Pontes; Ivasaki e Oliveira (2003) analisaram 27 amostras de LH pasteurizado em BLH, observando 25,9% das amostras positivas para coliformes termotolerantes.

Comparando os dados destes estudos com o presente trabalho percebe-se que o percentual de amostras contaminadas na presente pesquisa foi menor e não houve contaminação por *E. coli* e nem contaminação na fração pasteurizada do LH.

Contaminantes em níveis elevados presentes no LH cru diminuem o valor biológico do leite, pois a microbiota contaminante utiliza os nutrientes presentes no leite e diminui seus fatores de proteção (ALMEIDA, 1986).

Carga microbiana em níveis elevados no LH pode torná-lo inviável para o consumo, principalmente levando em consideração a fragilidade dos seus consumidores. A pasteurização é eficiente, principalmente se a carga microbiana na amostra crua for baixa.

Neste estudo pode-se concluir que o LH filtrado cru apresentou elevado índice de contaminação por coliformes totais em 4 amostras analisadas, sendo que estas apresentaram carga microbiana baixa quando pesquisada a carga microbiana termotolerante.

A pasteurização mostrou-se um processo seguro e eficaz, não sendo identificados resultados positivos em nenhuma amostra pasteurizada. O LH analisado aqui, após pasteurizado, apresentou condições higiênico-sanitárias adequadas para o consumo, mesmo este apresentando sujidade quando cru na fase de triagem organoléptica.

Não foi encontrada amostra contaminada por *E. coli* neste estudo, indicando que as doadoras estão realizando a assepsia correta no momento precedente à ordenha e coleta.

O LH filtrado e pasteurizado neste estudo apresentou conformidade de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução RDC nº 12, de janeiro de 2001, ou seja, apresentou ausência de bactérias do grupo coliforme.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A remoção da sujidade do LH, seguida de pasteurização, mostrou-se uma alternativa viável e muito eficaz. Retirar a sujidade por meio da filtração e pasteurizar o LH em seguida é uma alternativa segura, que certamente diminuirá o volume de leite desprezado nos BLHs.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. A. G. Amamentação: um híbrido natureza-cultura. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1999.

ALMEIDA, J. A. G. Qualidade do leite humano coletado e processado em bancos de leite humano. 1986. 68p. [Dissertação de Mestrado] - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington, DC, 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. 160p. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2008. Disponível em: <<http://www.redeblh.fiocruz.br/media/blhanv2008.pdf>> Acesso em: 24 set. 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 171, de 4 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Leite humano. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 5 set. 2006. Disponível em: <http://www.redeblh.fiocruz.br/media/rdc_171.pdf> Acesso em: 24 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guimarães, V.; Almeida, J. A. G.; Novak, F. R. Normas técnicas para bancos de leite humano. Brasília, 2004. 26 p. (BLH- IFF/NT- 11.04). Disponível em: <<http://www.redeblh.fiocruz.br/media/higiene.pdf>> Acesso em: 24 set. 2018.

BRITTO, M. G. M.; BARBOSA, L. L.; HAMANN, E. M. Avaliação sanitária dos bancos de leite humano na rede hospitalar do Distrito Federal. Rev. Saúde do Distrito Federal, v.13, n. 3/4, p. 17-28, 2002. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=383540&indexSearch=ID>> Acesso em: 24 set. 2018.

CASTRO, M. R. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru ordenhado recebido em banco de leite humano. 2006. 61 p. [Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos] - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

FIOCRUZ (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ). Programa Nacional de Qualidade em Bancos de Leite Humano. Rio de Janeiro, 2003.
GALVÃO, M. T. G.; VASCONCELOS, S. G.; PAIVA, S. S. Mulheres doadoras de leite humano. Acta Paulista de Enfermagem, v.19, n.2, p. 157-61, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ape/v19n2/a06v19n2.pdf>> Acesso em 24 set. 2018.

HINRICHSEN, S. L. Biossegurança e controle de infecções: risco sanitário hospitalar. Rio de Janeiro: Medsi, 2004. p. 153-57.

LUCAS, A.; FEWTRELL, M. S.; MORLEY, R. Randomized outcome trial of human milk fortification and developmental outcome in preterm infants. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 64, n. 1, p. 142-51, 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8694013>> Acesso em 24 set. 2018.

LUCAS, A.; GORE, S. M.; COLE, T. J.; BANFORD, M. F. Multicentre Trial on feeding low birth weight infants: effects of diet on early growth. Archives of Disease in Childhood, v. 59, n. 9, p. 722-30, 1984. Disponível em: <<https://adc.bmj.com/content/archdischild/59/8/722.full.pdf>> Acesso em 24 set. 2018.

MCNEMAR, Q. On Wilson's distribution-free teste of analysis of variance hypotheses. Psychological Bulletin, v. 54, n. 4, p. 361-362, 1957. Disponível em: <<http://psycnet.apa.org/fulltext/1959-02523-001.pdf>> Acesso em 24 set. 2018.

NOBRE, G. C.; COELHO, R. C.; SILVA, N. M.; DINIZ, Y. B.; GUERRA, R. C. Análise microbiológica do leite humano cru do banco de leite de um hospital de Araguaína/TO. Revista Científica do ITPAC, v. 8, n. 2, pub. 8, 2015. Disponível em: <https://assets.itpac.br/arquivos/Revista/75/Artigo_8.pdf> Acesso em: 24 set. 2018.

PONTES, M. R.; IVASAKI, Y.; OLIVEIRA, Y. S. Avaliação das condições sanitárias do leite humano pasteurizado distribuído pelo banco de leite de um hospital público do Distrito federal. *Higiene Alimentar*, v. 17, p. 43-49, 2003. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=350938&indexSearch=ID> Acesso em: 24 set. 2018.

POPPER, I. O. P.; OLIVEIRA, M. M. B.; VANNUCHI, M. T. O.; BORGES, J. Q.; SILVA, M. P.; NISHIKAWA, L. Y.; LIMA, C. M. A. Produção de leite humano ordenhado “zero defeitos”: uma proposta. *Higiene Alimentar*, v. 15, n. 84, p. 44-50, 2001. Disponível em: < <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=285756&indexSearch=ID>> Acesso em: 24 set. 2018.

SCHANLER, R. J. Suitability of human Milk foot the low-birthweight infant. *Clinics Perinatology*, v. 22, n. 2, p. 207-22, 1995. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7781253>> Acesso em: 24 set. 2018.

SERAFINI, A. B.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; RODRIGUES, M. A. V.; KIPNIS, A.; CARVALHO, C. O.; CAMPOS, M. R. H.; MONTEIRO, E. C.; MARTINS, F.; JUBÉ, T. F. N. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. *Revista de Saúde Pública*, v. 37, n.6, p. 775-779, 2003. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v37n6/18021.pdf>> Acesso em: 24 set. 2018.

SILVA, V. G. Normas técnicas para banco de leite humano: uma proposta para subsidiar a construção para Boas Práticas. 2004. 181p. [Doutorado em Saúde da Mulher e da Criança] – Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.

Recebido em: 24-09-2018

Aceito em: 25-05-2020