



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**FATORES MATERNOS E PERINATAIS ASSOCIADOS À
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO LEITE HUMANO DE
DOADORAS DE BANCO DE LEITE HUMANO**

Raquel Ximenes Melo

**Rio de Janeiro
Março de 2020**



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**FATORES MATERNOS E PERINATAIS ASSOCIADOS À
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO LEITE HUMANO DE
DOADORAS DE BANCO DE LEITE HUMANO**

Raquel Ximenes Melo

Dissertação apresentada à Pós-Graduação em Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, da Fundação Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Maria Elisabeth Lopes Moreira

Coorientadora: Daniele Marano

**Rio de Janeiro
Março de 2020**

Ficha Catalográfica

CIP - Catalogação na Publicação

Ximenes Melo, Raquel .

Fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras de Banco de Leite Humano / Raquel Ximenes Melo.
- Rio de Janeiro, 2020.
108 f.; il.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher) - Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro - RJ, 2020.

Orientadora: Maria Elisabeth Lopes Moreira.
Co-orientadora: Daniele Marano.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Leite Humano. 2. Macronutrientes. 3. Nutrição do lactente. 4. Aleitamento Materno. 5. Banco de Leite. I. Título.

Na vida a gente nunca perde
Ou a gente ganha
Ou a gente aprende

*Dedico às mães e bebês doadores de amor
e às mães e bebês que recebem este amor em forma de leite*

Agradecimentos

Ao Criador, por tudo;

À minha orientadora Maria Elisabeth Moreira Lopes, pela oportunidade e confiança;

À minha orientadora Daniele Marano, pelos ensinamentos, apoio e disponibilidade;

Aos membros da banca examinadora Cristiano Siqueira Boccolini e Danielle Aparecida da Silva, por aceitarem participar da avaliação do meu trabalho, assim como também o Saint Clair Gomes e Alexandre Gonçalves Soares;

Ao Dr. João Aprígio Guerra de Almeida e Danielle Aparecida da Silva pela oportunidade de aprofundar meus conhecimentos sobre Banco de Leite Humano;

Às amigas e companheiras de trabalho Ana Elizabeth Ribeiro, Claudia Domingos Francilene Maia, Isis Gorete Azevedo, Maria Renilde Maia, pelo apoio e compreensão;

Às telefonistas do SOS Amamentação Eliane Marin e Sulamita Soares e aos motoboys Adriano da Silva e Anderson Barbosa, pela parceria;

Às companheiras de análises Camilla Magalhães, Elissa Couto, Rachel Neto e Stéfane Pimentel, pela ajuda e em especial à Yasmin Amaral, por sua paciência em me treinar e por me ajudar;

Aos professores e à minha turma de mestrado, especialmente à Carolina Aquino, Renata Joviano, Renata Lourenço, Tatiana Hamanaka, pessoas incríveis e generosas;

À minha mãe Sonia, minhas irmãs Fabiane e Jaqueline, ao meu sobrinho Miguel e ao meu gato Bruce, pelo estímulo e torcida pela minha vitória;

Às doadoras e seus bebês, que são seres iluminados e foram importantes para a realização desse trabalho;

E em especial aos recém-nascidos internados, que são a motivação para mim e para essas e tantas outras pessoas darem o melhor de si para oferecer sempre o melhor para eles.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a associação do sexo do neonato e a composição nutricional do leite humano e os principais fatores maternos e perinatais associados a composição nutricional do leite humano de doadoras de Bancos de Leite Humano. **Métodos:** O presente estudo foi realizado em duas fases. Para avaliar a associação entre o sexo do neonato e a composição nutricional do leite humano foi realizada uma revisão sistemática da literatura expressa na forma de um relatório breve e para os fatores peri e neonatais foi realizado um estudo transversal, entre Novembro de 2018 e Janeiro de 2020, com 181 doadoras de um Posto de Coleta, de quatro Bancos de Leite Humano do município do Rio de Janeiro e um de Duque de Caxias. Para a coleta de dados foi aplicado um questionário padronizado que continha questões maternas e do recém-nascido. A variável dependente do estudo foi a composição nutricional do leite humano (proteína, lipídio, carboidrato e energia). As variáveis independentes do estudo foram a idade, o uso de álcool, o fumo, a presença de morbidades maternas (hipertensão arterial e diabetes mellitus), o estado nutricional pré-gestacional, o ganho de peso gestacional, o sexo do neonato, o tipo de parto e a idade gestacional no parto. Para análise da composição nutricional do leite maduro, as amostras classificadas com acidez igual ou inferior a 8° D pelo método de Dornic, tiveram a sua composição nutricional analisada pelo aparelho Miris™ Human Milk Analyzer que utiliza tecnologia baseada na transmissão de espectroscopia no infravermelho médio. **Resultados:** Sobre a influência do sexo do neonato na composição nutricional do leite humano, quatro dos cinco estudos selecionados observaram que o leite de mães de meninos possuíam maiores teores de lipídios e/ou de energia em relação ao das mães de meninas. Quando observada a composição nutricional em relação aos fatores maternos e perinatais, a obesidade pré-gestacional e o ganho de peso gestacional acima do recomendado foram associados à redução da quantidade proteica no leite humano das doadoras de Banco de Leite Humano. **Conclusão:** Foi possível observar que importantes fatores maternos e perinatais reduziram a quantidade de proteínas do leite humano. Recomenda-se que esse conhecimento seja incorporado no manejo clínico dos profissionais de saúde, sobretudo, os que exercem suas atividades nos Bancos de leite humano, a fim de auxiliar no manejo do leite para os recém-nascidos internados. Outrossim, é de extrema importância que a avaliação nutricional das mulheres seja uma atividade incorporada rotineiramente nas consultas periconcepcionais e no pré-natal.

Palavras-chaves: Leite Humano; Macronutrientes; Nutrição do lactente; Aleitamento Materno; Banco de Leite

ABSTRACT

Objective: To evaluate the association of newborn gender and nutritional composition of human milk and the main maternal and perinatal factors associated with the nutritional composition of human milk from human milk banks. **Methods:** The present study was carried out in two phases. To assess the role of the neonate gender on a nutritional composition of human milk, a systematic review of the literature was carried out, showing a brief report and for the peri and neonatal factors carried out in a cross-sectional study between November 2018 and January 2020, with 181 donors from a Collection Station, four human milk banks in the city of Rio de Janeiro and one from Duque de Caxias. For data collection, a standardized questionnaire was applied that contains maternal and newborn questions. A dependent variable of the study was a nutritional composition of human milk (protein, lipid, carbohydrate and energy). As independent variables in the study were: age, alcohol use, smoking, presence of maternal morbidities (hypertension and diabetes mellitus), pre-gestational nutritional status, gestational weight gain, gender of the newborn, type of delivery and age gestational childbirth. For analysis of the nutritional composition of mature milk, as samples classified with acidity equal to or less than 8° D by the Dornic method, their nutritional composition was analyzed by the Miris™ Human Milk Analyzer device that uses the technology used in mid-infrared spectroscopy. **Results:** About the influence of the gender of neonate on the nutritional composition of human milk, four of the five selected studies observed that the milk of mothers of boys had higher levels of lipids and / or energy in relation to that of mothers of girls. When observing the nutritional composition in relation to maternal and perinatal factors, pre-gestational obesity and higher than recommended gestational weight gain were associated with a reduction in the amount of protein in human milk from Human Milk Bank donors. **Conclusion:** It was possible to observe that important maternal and perinatal factors reduced the amount of proteins in human milk. It is recommended that this knowledge be incorporated into the clinical management of health professionals, especially those who work in human milk banks, in order to assist in the management of milk for hospitalized newborns. Furthermore, it is extremely important that the nutritional assessment of women is an activity incorporated routinely in periconceptional consultations and in prenatal care.

Keywords: Human Milk; Macronutrients; Infant nutrition; Breastfeeding; Milk Bank

ÍNDICE

1. Introdução	13
2. Justificativa	16
3. Objetivos	17
3.1 Objetivo Geral	17
3.2 Objetivo Específico	17
4. Referencial Teórico	18
5. Hipótese	45
6. Métodos	46
7. Resultados	55
7.1. Artigo 1	56
7.2. Artigo 2	62
8. Considerações Finais	81
Referências Bibliográficas	83

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	98
Apêndice 2	Questionário	101

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Ficha de Cadastro de Doadoras do Banco de Leite Humano	104
Anexo 2	Checklist para submissão do manuscrito no Periódico Acta Paediatrica	106
Anexo 3	Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (IFF/Fiocruz)	108

LISTA DE TABELAS E FLUXOGRAMAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1	Fatores maternos associados à composição nutricional do leite humano	36
Tabela 2	Fatores perinatais associados à composição nutricional do leite humano	44

MÉTODOS

Fluxograma 1	Fluxo do processo de captação de doadoras, da coleta de dados, transporte, armazenamento e análise do leite humano	50
---------------------	--	----

ARTIGO 1	The influence of the gender of newborns on human milk composition	
-----------------	---	--

Tabela 1	Table 1. Methods used of the select studies to assay the nutritional composition of human milk and the results	61
-----------------	--	----

ARTIGO 2	Composição nutricional do leite humano e associação com fatores maternos e perinatais	
-----------------	---	--

Tabela 1	Composição nutricional do leite maduro de doadoras de Banco de Leite Humano e Posto de Coleta, 2018-2020	77
-----------------	--	----

Tabela 2	Características sociodemográficas, comportamentais, obstétricas e nutricionais de doadoras de leite humano, 2018-2020	77
-----------------	---	----

Tabela 3	Análise dos fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano, 2018 - 2020	79
-----------------	--	----

APRESENTAÇÃO

O trabalho apresentado consiste na dissertação de mestrado acadêmico intitulada **“Fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras atendidas em Banco de Leite Humano”**.

O presente estudo foi conduzido pelos pesquisadores do Banco de Leite Humano e pelo Grupo de Pesquisa Clínica em Saúde da Criança e da Mulher do Instituto Nacional da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), localizado no Município do Rio de Janeiro (RJ).

Essa dissertação será apresentada sob a forma de dois artigos. Para o primeiro artigo foi realizado um relatório breve: “The influence of the gender of newborns on human milk composition”, publicado na revista *Acta Paediatrica*.

O segundo artigo se deteve na avaliação dos principais fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional de leite humano doado para Bancos de Leite Humano.

Os principais achados foram destacados na seção de considerações finais, ressaltando-se a importância dos mesmos para o meio científico e para as práticas de saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

O leite humano é um fluido complexo com milhares de componentes importantes para a saúde, crescimento, desenvolvimento e imunidade da criança, pois contém lipídios, proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, substâncias imunocompetentes (imunoglobulina A, enzimas, interferón), além de fatores tróficos, moduladores de crescimento (Costa & Sabarense, 2010), células-tronco multipotentes, hormônios e bactérias (Dessì et al., 2018).

O aleitamento materno é considerado a intervenção com o maior potencial de redução da mortalidade infantil (Boccolini et al., 2017). Além disso, a amamentação supre as necessidades infantis tanto no aspecto biológico como no psicológico, favorece o vínculo entre mãe e bebê e exerce efeito protetor para doenças crônicas, reduzindo o risco para a obesidade, o diabetes tipo 2 (Bzikowska-Jura et al., 2018), a hipertensão arterial sistêmica na vida adulta (Grote et al., 2016).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) (2001) e o Ministério da Saúde (MS) (2015a), o aleitamento materno exclusivo é recomendado em regime exclusivo até os seis primeiros meses de vida, e após esse período deve ocorrer a complementação com outros alimentos, sendo o aleitamento mantido durante dois anos ou mais.

Há quase quatro décadas, as políticas públicas em favor do aleitamento materno contam com os Bancos de Leite Humano para a promoção, proteção e apoio da amamentação. Essas unidades se configuram como locais privilegiados para ações de incentivo ao aleitamento materno em suas múltiplas formas, seja diretamente de mãe para seu filho ou através das doações de leite humano, sendo este um ato voluntário, motivado pelo excesso de produção de leite, que ajuda evitar problemas para a puépera caso não seja ordenhado apropriadamente, além de atender as necessidades nutricionais de recém-nascidos internados (Raupp, 2016).

Os Bancos de Leite Humano são responsáveis pelo processamento e controle de qualidade do leite humano doado. De acordo com a RDC Nº 171/2006, é estabelecido para o controle de qualidade, a determinação da acidez titulável em graus Dornic e teor calórico em Kcal/L para o leite humano ordenhado cru. O método de Dornic exclui o leite com acidez maior que 8ºD por apresentar grande quantidade de microrganismos. O processo de acidificação libera ácido lático e causa a desestabilização de proteínas solúveis e micelas de caseína, aumentando a osmolaridade e alterando o flavor (sabor e cheiro) do leite. O cálcio e fósforo, importantes na mineralização óssea de prematuros, formam conglomerados com as caseínas e ficam indisponíveis para a absorção devido alta acidez (Pereira et al., 2016). E o método de crematócrito avalia o teor energético e lipídico do leite humano (Santiago et al., 2018). Destaca-se outro método de análise usado para a avaliação da composição nutricional do leite humano, o equipamento Miris™ Human Milk Analyzer, que quantifica os macronutrientes e a caloria do leite humano (Léké et al., 2019).

Pelo fato do leite humano doado possuir importantes diferenças em sua composição nutricional, é de suma importância conhecer os fatores que podem modificá-la para que esse leite seja distribuído considerando suas características intrínsecas e as necessidades nutricionais dos recém-nascidos internados, sobretudo os de muito baixo peso (RNMBP) e os prematuros. A composição nutricional do leite humano pode ser influenciada por alguns fatores maternos, tais como o estado nutricional, a idade (Álvarez de Acosta et al., 2013), o estilo de vida, a ingestão alimentar (Costa & Sabarense, 2010), doenças crônicas (hipertensão arterial e diabetes mellitus), estágio da lactação (Massmann et al., 2013; Dritsakou et al., 2017) e por fatores perinatais, tais como o sexo do recém-nascido (Thakkar et al., 2013), o tipo de parto (Hahn et al., 2017), a prematuridade (He et al., 2014) e o peso ao nascer (Santiago et al., 2018).

Contudo, ainda que seja amplo o leque de estudos que discutam os benefícios da amamentação sobre a saúde infantil (crescimento e o desenvolvimento), ainda são escassos os artigos que observaram a associação entre fatores maternos e perinatais e a composição nutricional do leite humano de doadoras de Bancos de Leite Humano.

2. JUSTIFICATIVA

Na literatura existem inúmeros estudos que discutem o impacto da amamentação sobre o crescimento e o desenvolvimento do recém-nascido. Todavia, ainda são escassos e contraditórios os resultados dos artigos que avaliaram a associação entre fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano, sobretudo em doadoras de Banco de Leite Humano. Ademais, esses achados sugerem que deve ser aprofundado o conhecimento sobre esses fatores

A avaliação dos principais fatores associados à composição nutricional do leite humano é de suma importância, visto o papel que o aleitamento materno exerce sobre a saúde infantil, especialmente na redução da mortalidade infantil. Destaca-se que esse conhecimento é de extrema relevância entre as doadoras de Bancos de Leite Humano, visto que conhecer as características individuais de cada doadora poderá fornecer informações a respeito da composição nutricional do leite doado por cada nutriz e poderá auxiliar na distribuição do leite com base nas necessidades nutricionais do recém-nascido internado, principalmente em locais que não possuem equipamentos para avaliação da composição nutricional do leite humano doado.

Espera-se que, com os resultados desse estudo, os principais fatores associados a composição nutricional do leite humano sejam observados o manejo clínico dos profissionais de saúde.

Desta forma, trata-se, portanto, de um tema com necessidades e novas possibilidades de estudos para os quais se identificam amplos espectros de investigação.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras de Banco de Leite Humano.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Investigar a associação entre sexo do neonato e a composição nutricional do leite humano;

3.2.2 Avaliar o perfil sociodemográfico, comportamental, obstétrico e nutricional das doadoras de Banco de Leite Humano e a associação entre os fatores maternos e perinatais e a composição nutricional do leite humano.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Políticas Públicas de Incentivo ao Aleitamento Materno

O declínio na prática do aleitamento materno que ocorreu no final do século XIX, consequência da inserção da mulher no mercado de trabalho, das crenças sobre amamentação, da influência das práticas hospitalares contrárias à amamentação por livre demanda, da industrialização de produtos, entre outros produziram impacto importante na mortalidade infantil. As altas taxas de mortalidade infantil em todo mundo e principalmente nos países em desenvolvimento fizeram surgir um movimento de incentivo à prática da amamentação (BRASIL, 2017a).

Diante desse cenário, muitas ações de incentivo ao aleitamento materno foram elaboradas e respaldadas por políticas públicas como uma das principais estratégias de combate à morbimortalidade infantil. Em 1981, diante da necessidade de garantir a nutrição segura e adequada de bebês e crianças, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (Unicef) adotaram o *Código Internacional de Mercadização dos Substitutos do Leite Materno* (1979), visando direcionar e regulamentar a divulgação, o monitoramento e o cumprimento do Código, além de verificar as informações contidas no rótulo do produto (BRASIL, 2009).

No mesmo ano, com o intuito de reverter o desmame precoce e reduzir a morbimortalidade infantil no Brasil, foram delineadas ações estratégicas através do *Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno* (PNIAM) para o resgate da amamentação (BRASIL, 2017a). Esse programa foi pautado por inúmeras ações visando à promoção (campanhas publicitárias veiculadas pelos meios de comunicação de massa e treinamento de profissionais de saúde), à proteção (criação de leis trabalhistas de proteção à amamentação e controle de marketing e comercialização de leites artificiais) e o apoio ao aleitamento materno (elaboração de material educativo, criação de grupos de apoio à

amamentação na comunidade e aconselhamento individual) (Müller et al., 2014). Além disso, o PNIAM propôs ainda implantação do alojamento conjunto (permanência do bebê junto à mãe em tempo integral) nas maternidades, início da amamentação imediatamente após o nascimento, não oferta de água e leite artificial nas maternidades, criação de leis sobre creches no local de trabalho da mulher e aumento do tempo da licença-maternidade (BRASIL, 2017b). O alojamento conjunto nas unidades hospitalares públicas foi tido como obrigatório, em 1983, após a publicação da portaria (BRASIL, 1993).

Já em 1985 foi regulamentada a instalação e o funcionamento dos Bancos de Leite Humano. Em 1988, ao assumir o compromisso de implementar o *Código Internacional de Mercadização dos Substitutos do Leite Materno*, o Brasil regulamentou portarias e resoluções (Resolução RDC Nº 221/2002, Resolução RDC Nº 222/2002, Portaria Nº 2.051/2001) que compuseram a *Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes e Crianças de 1ª Infância, Bicos, Chupetas e Mamadeiras* (NBCAL), regulando a divulgação e rotulagem de produtos destinados a menores de três anos de idade e assegurando a não interferência no aleitamento materno (IBFAN, 2019). Ainda em 1988, a Constituição Brasileira previu o direito da mulher trabalhadora a 120 dias de licença maternidade e o direito ao pai a cinco dias de licença paternidade (BRASIL, 2017b). Diante da inserção da mulher no mercado de trabalho, a licença-maternidade se constituiu um aliado à prática do aleitamento materno exclusivo, pois permite que a mãe trabalhadora mantenha sua renda e possibilita dedicação integral ao filho. As mães que usufruem do direito da licença maternidade apresentam maior prevalência de aleitamento exclusivo (Rimes et al., 2019).

Em 1989, a OMS e Unicef publicaram os Dez Passos para o Sucesso do Aleitamento Materno para reforçar a promoção, proteção e apoio à amamentação (OMS, 2018).

Em 1990 foi proposto documento internacional *Declaração de Innocenti* que recomendou um conjunto de metas visando a prática do aleitamento exclusivo até os seis

meses de vida, e complementada com alimentação complementar saudável até o 2º ano de vida (IBFAN, 2019). Ainda nessa década, com o objetivo de intensificar os programas relacionados a saúde e redução de óbitos na primeira infância, o governo brasileiro criou o *Projeto de Redução da Mortalidade Infantil (PRMI)* (1995) (BRASIL, 2018) e a *Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano* (1998) (BRASIL, 2008).

Em 1991 foi lançada a *Iniciativa Hospital Amigo da Criança (IHAC)* cujo objetivo era resgatar o direito da mulher de amamentar, mediante mudanças nas rotinas das maternidade. Essa iniciativa é um processo de acreditação para que o hospital seja credenciado como *Amigo da Criança*. Para o alcance desse objetivo, o hospital deve cumprir os *Dez Passos para o Sucesso da Amamentação* e não aceitar doação de substitutos do leite materno (OMS, 2019).

Com a extinção do PNIAM em 1997, o Ministério da Saúde, em 1999, implementou a Política Nacional de Aleitamento Materno (PNAM) que foi organizada em seis braços estratégicos, a saber: 1) Incentivo ao aleitamento materno na Atenção Básica: Rede Amamenta Brasil (2008); 2) Atenção hospitalar: Iniciativa Hospital Amigo da Criança (IHAC) e o Método Canguru (2000); 3) Política governamental de promoção do aleitamento materno: a Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano; 4) Proteção legal ao aleitamento materno: norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes, licença maternidade (4→6 meses); 5) Mobilização social: Semana Mundial de Amamentação, Dia Nacional de Doação de Leite Humano, Projeto Carteiro amigo e ajuda dos bombeiros; 6) Monitoramento das ações e práticas: Pesquisa Nacional em Demografia e Saúde a cada 10 anos (BRASIL, 2017a).

Nos anos 2000, um grupo se reuniu para revisar a NBCAL com a participação de órgãos federais, instituições internacionais e sociedade civil para elaborar a Portaria Ministerial Nº 2051, em 2001 e Resoluções da Diretoria Colegiada – RDC Nº 221 e 222/2002

(IBFAN, 2019). Outras ações estratégicas foram colocadas em prática, como a criação do *Dia Nacional de Doação de Leite Humano* (rBLH, 2019), os projetos *Carteiro Amigo* e *Bombeiro da Vida* (Figueiró, 2010).

Em 2006 foi designado o Comitê Nacional de Aleitamento Materno que visava auxiliar e amparar a atuação das ações de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno (BRASIL, 2012). Ainda nesse ano, outra melhoria na NBCAL foi a Lei Nº 11265/2006, que regulamentou alimentos e produtos infantis para crianças menores de três anos. Outras ações como a *Iniciativa Unidade Básica Amiga da Amamentação*, a *Pastoral da Criança* e as *Amigas do Peito* foram implementadas (Senac, 2007).

Em 2008, o Ministério da Saúde seguiu com a política em prol da promoção do aleitamento materno na Atenção Básica com a concepção da *Rede Amamenta Brasil*, focado na conscientização e reavaliação do trabalho interdisciplinar nas unidades básicas (BRASIL, 2008).

No ano de 2010, um grande passo dado em apoio à mulher trabalhadora que amamenta foi a Nota Técnica Conjunta Nº 01/2010 da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) e do Ministério da Saúde, no qual estabeleceu a implementação de salas de apoio à amamentação em empresas públicas e privadas tendo apoio das vigilâncias sanitárias locais (BRASIL, 2015b).

Em 2012, a Portaria Nº 111 reformulou a composição do *Comitê Nacional de Aleitamento Materno* agregando grupos de mães, sociedade civil, organismos internacionais, instituições de ensino, instituições públicas.

Em 2013, a *Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil* (EAAB) foi implantada pela Portaria Nº 1920 e integrou a *Rede Amamenta Brasil* (2008) e a *Estratégia Nacional de Promoção da Alimentação Complementar Saudável* (ENPACS) (2009). A EAAB visa melhorar as atuações de promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno e alimentação

complementar para menores de 2 anos, com capacitação dos profissionais da Atenção Básica (BRASIL, 2013a).

Em 2014, o credenciamento dos hospitais na IHAC se tornou mais exigente, além dos critérios mínimos necessários preconizados anteriormente (*Dez Passos e o Código Internacional de Comercialização de Substitutos do Leite Materno pela Assembleia Mundial de Saúde*), a OMS e a Unicef incluíram a humanização no parto e nascimento, conhecido como *Cuidado Amigo da Mulher*. O Brasil ainda acrescentou os cuidados com os recém-nascidos de risco, designado “permanência do pai ou da mãe junto ao Recém-Nascido - 24 horas por dia e franco acesso deles durante o dia e a noite” (Müller et al., 2014).

Em 2015 foi instituída a *Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Criança* (PNAISC) com o objetivo de promover e proteger a saúde da criança e o aleitamento materno visando à redução da morbimortalidade e a um ambiente facilitador à vida com condições dignas de existência e pleno desenvolvimento (BRASIL, 2018). A Política foi estruturada em sete eixos, sendo um deles relacionado à promoção do aleitamento materno e da alimentação complementar saudável a fim de fortalecer as ações já existentes.

Mais recentemente foi publicada a Lei Nº 13.435/2017 que considerou o mês de agosto como o *Mês do Aleitamento Materno* (Agosto Dourado), para o alcance dos seguintes objetivos: intensificar ações intersetoriais de conscientização e esclarecimento sobre a importância do aleitamento materno; realizar palestras e eventos; reunir com a comunidade; divulgar ações de aleitamento em espaços públicos (BRASIL, 2017d).

4.2 Aleitamento Materno no Brasil

Na década de 70 foi verificada uma epidemia de desmame devido ao intenso processo de urbanização, intensificação do marketing das fórmulas infantis para alcançar mães de

diversos níveis socioeconômicos, atingindo principalmente o número crescente de mães que entram no mercado de trabalho (Oliveira et al., 2017).

O estudo realizado por Boccolini et al. (2017) avaliou os dados secundários de quatro inquéritos nacionais sobre aleitamento materno, a saber: Pesquisa Nacional sobre Saúde Maternoinfantil e Planejamento Familiar (1986), Pesquisa Nacional sobre Demografia e Saúde (1996), Pesquisa Nacional sobre Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (2006) e Pesquisa Nacional de Saúde (2013). Em relação ao indicador aleitamento materno exclusivo em menores de seis meses de vida, os autores observaram aumento de sua prevalência (4,7% em 1986 para 37,1% em 2006). Todavia, houve estabilização desse indicador (36,6%) entre 2006 e 2013 ressaltando a importância de revisão das políticas e programas e proposição de novas estratégias com o objetivo de retornar o aumento desse indicador.

Estudos anteriores observaram também aumento da prevalência e da duração do aleitamento materno. No inquérito nacional realizado no ano de 1975, a duração mediana da amamentação atingia 2,5 meses, enquanto que no ano de 2008 chegou a alcançar 11,3 meses. A prevalência da amamentação exclusiva no Brasil em menores de seis meses teve um acréscimo de 3,1% em 1986 para 38,6% em 2006 (Venancio et al., 2013). Nas capitais brasileiras e no Distrito Federal em 1999, a prevalência da amamentação atingiu 35,6% em crianças com menos de quatro meses, chegando a duração de 10 meses (Venancio et al., 2010).

Esse aumento da prevalência da amamentação exclusiva em menores de seis meses ao longo dos anos se deve ao fato de que o Brasil incluiu em sua agenda de prioridades em saúde a promoção, a proteção e o apoio ao aleitamento materno. Todavia, o Brasil, segundo os critérios da OMS (2001), ainda é considerado em situação razoável em relação ao indicador amamentação exclusiva.

4.3 Banco de Leite Humano

O Instituto Nacional de Puericultura, hoje Instituto Nacional da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF) da Fundação Oswaldo Cruz, na cidade do Rio de Janeiro, de forma pioneira, em 1943, implantou o primeiro Banco de Leite Humano do Brasil, com o objetivo de coletar e distribuir o leite humano e oferecer atendimento aos casos especiais, como prematuridade, distúrbios nutricionais e alergias a proteínas heterólogas (Brasil, 2008).

A história dos Bancos de Leite Humano no Brasil se divide em três períodos: 1943-1985, fase inicial e consolidação da primeira unidade; 1985-1997: ampliação e incorporação de atividades relacionadas à promoção, proteção e apoio à amamentação; 1998 até hoje: implantação da rede nacional como política pública e cooperação técnica com países da América Latina, Europa e África (Morosini, 2014).

O leite humano coletado e distribuído nos Bancos de Leite Humano não passava por análise de composição nutricional ou controle de qualidade. Operava-se uma relação comercial entre doadoras e não havia estímulo ao aleitamento materno (Maia et al., 2006).

Em 1984, o PNIAM instituiu o grupo técnico de Banco de Leite Humano com o objetivo de monitorar a correta implantação e funcionamento dos Bancos em todo o território nacional. Esse trabalho foi importante na elaboração de recomendações técnicas para garantir a uniformidade de procedimentos técnicos, desde a coleta até a distribuição do leite humano ordenado pasteurizado. Além disso, tais recomendações técnicas serviram de base para primeira legislação federal - Portaria GM/MS Nº 322/1988 (BRASIL, 1993).

Em 1997, houve a extinção do PNIAM. Em 1999, através da Portaria Nº 710, o Ministério da Saúde aprovou a Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) com iniciativas específicas dirigidas ao aleitamento materno e revisão de métodos e estratégias de atuação (BRASIL, 2013b).

O Ministério da Saúde e a Fundação Oswaldo Cruz, como parte da PNAM, criaram a Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano (rBLH-BR)(1998) que teve como objetivo para além de coletar, processar e distribuir leite humano com qualidade certificada, promover, proteger e apoiar as ações assistenciais relativas ao aleitamento materno (rBLH, 2019).

Em 2006, a regulamentação da Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 171, estabeleceu as atividades relacionadas ao Banco de Leite Humano e Posto de Coleta de Leite Humano (PCLH), exigindo licença de funcionamento, licença sanitária, alvará sanitário, bem como o vínculo de um Banco de Leite Humano a um hospital de assistência materna e/ou infantil e o PCLH ser vinculado tecnicamente a um Banco de Leite Humano (BRASIL, 2006).

O modelo desenvolvido no Brasil consistiu em tecnologia de baixo custo, eficiência técnica e capacitação dos profissionais. Com uma bem-sucedida implementação nacional, a rBLH-BR, através de cooperação técnica internacional do Ministério da Saúde e da Agência Brasileira de Cooperação (ABC), expandiu para outros países o modelo brasileiro com o intuito de ajudar na redução da mortalidade infantil e incentivar o aleitamento materno com adequação às particularidades de cada país (Freitas, 2014). No Brasil, a doação ocorre de forma voluntária e o controle de qualidade analisa cada frasco individualmente com controle físico-químico e microbiológico. No modelo norte-americano há cobrança de um valor para cobrir parcialmente os custos, mas sem remuneração da doadora. E no modelo europeu ocorre pool do leite doado com testagem por amostragem (Venancio & Toma, 2019).

A Rede se constitui com mais de 220 Bancos de Leite Humano e mais de 200 Postos de Coleta de Leite Humano no país (rBLH, 2019).

4.4 Composição Nutricional do Leite Humano

O leite humano é o alimento ideal para os bebês, pois contém proteínas complexas, lipídios e carboidratos que variam dinamicamente durante a amamentação e no decorrer do período de lactação (Andreas et al., 2015). Possui também componentes bioativos como bactérias probióticas e células com funções fisiológicas, proporcionando imunidade passiva e ativa ao recém-nascido (Witkowska-Zimny & Kaminska-El-Hassan, 2017).

Há grande variação na composição nutricional do leite humano, e essa complexidade nutricional tem importância fundamental no desenvolvimento infantil (Prentice et al., 2016).

Os carboidratos do leite humano são compostos por lactose e oligossacarídeos. Ambos são resistentes à digestão e interagem com a mucosa intestinal influenciando na microbiota intestinal e no sistema imune (Elwakiel et al., 2018). A lactose é o principal carboidrato encontrado no leite humano e o que apresenta menor variação. Esse dissacarídeo formado por galactose e glicose é encontrado em maiores quantidades entre as mulheres que produzem grande quantidade de leite (Ballard & Morrow, 2013) e corresponde cerca de 85% do total de carboidratos. Os oligossacarídeos são glicanos complexos à base de lactose considerados o terceiro componente mais abundante presente no leite humano. Cerca de 40% da energia do leite humano é fornecida pelos carboidratos (Gridneva et al., 2016).

A estrutura lipídica se apresenta sob forma de glóbulos de gordura acondicionados por uma tricamada fosfolipídica, composta por fosfolípidos, proteínas específicas e colesterol, além de fornecer vitaminas. Sua estrutura permite a lipólise pelo sal biliar presente no leite humano (Gallier et al., 2015). Os lipídios fornecem cerca de 55% da energia total do leite humano que proveem de ácidos graxos, colesterol e vitaminas lipossolúveis sob forma de emulsão (Andreas et al., 2015; Koletzko, 2016) e são estratificados em triacilglicerídeos (98 - 99%), fosfolipídios (0,26 - 0,80%) e esteróis (0,25 - 0,34%). Além desses, o leite humano apresenta quantidades reduzidas de vários outros componentes lipídicos, como o

monoacilgliceróis, diacilgliceróis e outras substâncias (Wei et al., 2019). Ressalta-se que um dos fatores que modificam o perfil de ácidos graxos, principalmente os poliinsaturados, é a dieta materna (Aumeistere et al., 2019).

As proteínas estão divididas em proteínas da membrana do glóbulo de gordura do leite, caseínas e proteínas do soro do leite. As que contribuem para o real teor proteico são as caseínas (20%) e as proteínas do soro (80%) (α -lactalbumina, lactoferrina e imunoglobulina A secretora) (Lonnerdal et al., 2017). O grupo de caseínas possuem valor nutricional e subdividem-se em β -caseína, κ -caseína e α -caseína. As proteínas do soro fornecem aminoácidos e energia, como também exercem outras funções que auxiliam o desenvolvimento do recém-nascido (Goonatilleke et al., 2019). A caseína presente no leite humano se apresenta em concentrações menores em relação as outras espécies, e a relação caseína-soro do leite humano está associada com um menor tempo de esvaziamento gástrico (Gridneva et al., 2016). A composição proteica e a relação soro-caseína sofre alterações durante a lactação. No início da lactação, a relação é aproximadamente oscila entre 70:30 e 80:20 de soro:caseína e chega a 50:50 ao longo da lactação (Martin et al., 2016).

4.5 Potenciais fatores associados a composição nutricional do leite humano

4.5.1 Fatores maternos associados à composição nutricional do leite humano

Estudos demonstram que a composição nutricional do leite humano pode ser modificada por alguns fatores maternos, tais como, a idade, o estado nutricional pré-gestacional, o ganho de peso (Álvarez de Acosta et al., 2013), o comportamento materno (tabagismo, uso de álcool), a ingestão alimentar (Costa & Sabarense, 2010), as doenças crônicas (hipertensão arterial e diabetes mellitus), o estágio da lactação (Masmann et al., 2015; Dritsakou et al., 2016).

4.5.2 Idade materna

Alguns estudos têm avaliado a associação entre a idade materna e o conteúdo nutricional do leite humano (Álvares de Acosta et al., 2013; Lubetzky et al., 2015). Hausman Kedem et al. (2013) conduziram um estudo de coorte com 90 lactantes (48 mulheres ≥ 35 anos e 42 mulheres ≤ 35 anos) e observaram um aumento do conteúdo lipídico no colostro de mulheres acima de 35 anos. Lubetzky et al. (2015) analisaram amostras de colostro, leite de transição e maduro em um estudo de coorte com 72 lactantes (38 mães mais velhas e 34 mães jovens) e observaram aumento no teor de carboidrato e de gordura nos leites de mulheres acima de 35 anos. Esses resultados, segundo os autores de ambos os estudos, podem ser parcialmente explicados devido ao impacto que a idade materna exerce sobre a capacidade biossintética da glândula mamária, acarretando menor volume de leite e maior concentração de nutrientes.

De forma semelhante, Hahn et al. (2018), em estudo transversal com 80 mães, observou que o leite de mulheres mais velhas e com sobrepeso continha maior teor de lipídio e de caloria em relação ao leite das mais jovens com sobrepeso. Não foi encontrada uma justificativa para o efeito da associação entre a idade materna e o conteúdo lipídico do leite humano. Álvares de Acosta et al. (2013) realizaram um estudo com 24 mães adolescentes (13 a 18 anos) e 28 mães adultas (19 a 36 anos) onde foram realizadas três extrações manuais de leite maduro: no início, meio (10-15 minutos) e final da mamada. Os autores não observaram diferença na quantidade de proteína, carboidrato, lipídio e caloria do leite maduro de mães adolescentes e adultas.

4.5.3 Estado nutricional pré-gestacional e atual

A obesidade é uma doença crônica multifatorial cujo impacto na vida de uma pessoa é o desenvolvimento de diversas doenças que reduzem a qualidade e a expectativa de vida

(BRASIL, 2017c). Pelo fato de essa doença ser considerada um problema mundial, afetando cada vez mais pessoas, é de extrema importância que esse problema seja confrontado em todas as fases da vida, especialmente em mulheres no período reprodutivo (Correia et al., 2011). Ao longo dos anos, alguns estudos tem se detido na associação entre o excesso de peso e a composição nutricional do leite humano (Mangel et al., 2017; Burianova et al., 2019). Ressalta-se que essa possível associação ainda não está clara pela literatura.

Mangel et al. (2017), em estudo transversal analisaram o colostro de 109 lactantes divididas em quatro grupos pelo IMC pré-gestacional (12 mulheres abaixo do peso, 59 com peso normal, 20 com sobrepeso e 18 obesas), observaram que a concentração de proteína variou positivamente com o aumento do índice de massa corporal (IMC) materno. Os autores argumentaram que existem diferenças no tipo de aminoácidos no leite e que as mulheres obesas apresentaram alta quantidade de aminoácidos de cadeia ramificada em relação as demais. No entanto, os mecanismos que interferem nestas correlações não estão esclarecidos.

Burianova et al. (2019) realizaram um estudo de coorte observacional com 192 mulheres que tiveram parto prematuro e que foram divididas em dois grupos de acordo com o IMC (IMC <30 e ≥ 30). Os autores observaram nas amostras de colostro e de leite maduro que a obesidade pré-gestacional foi associada a maiores teores de energia e de lipídio. Bachour et al. (2012), em seu estudo transversal com 23 mulheres eutróficas, 23 com sobrepeso e nove com obesidade, observaram que as mães com sobrepeso apresentaram menor concentração de proteína no leite em relação às demais. Em ambos os estudos, os autores associaram que as alterações no leite de mulheres com obesidade e sobrepeso pré-gestacional pode ser resultado das alterações metabólicas que o estresse oxidativo e a inflamação causados pelo IMC acima do recomendado provocam no organismo.

Nommsen et al. (1991) em seu estudo longitudinal com 92 mulheres, verificaram que o sobrepeso aumentou a quantidade de lipídio do leite maduro aos seis, nove e 12 meses. Esse

resultado é parcialmente explicado pelos autores pelo fato dessas mulheres terem maiores quantidades de triglicerídeos plasmáticos.

No estudo transversal de Hahn et al. (2018), 80 mulheres sul-coreanas divididas em quatro subgrupos com 20 participantes em cada, divididas por idade e IMC (20 anos eutróficas, 20 anos com sobrepeso, 30 anos eutróficas e 30 anos com sobrepeso). As lactantes com 20 anos eutróficas apresentaram maior teor lipídico em relação as lactantes dos outros grupos. A proteína apresentou maior teor nas mães de 20 anos com sobrepeso. Mulheres de 30 anos eutróficas apresentaram maior teor de carboidratos em relação aos demais grupos. Já nas mulheres de 20 anos eutróficas, o conteúdo calórico foi superior em relação aos outros grupos. Para os autores não estão claras as razões dessas associações.

Diante dos resultados apresentados, observa-se que existem disparidades metodológicas e nos resultados em relação aos efeitos do estado nutricional materno sobre o conteúdo nutricional do leite humano.

4.5.4 Tabagismo

O tabagismo é uma doença crônica de dependência da nicotina associado a fatores comportamentais e psicológicos. A exposição das mulheres ao tabaco como fumantes ativas ou passivas durante a amamentação reduz os efeitos protetores que o colostro e o leite maduro possuem e restringe os benefícios do leite materno na saúde e no bem-estar das crianças (Napierala et al., 2019).

A revisão crítica de Napierala et al. (2016) demonstrou que a prevalência de mulheres fumantes durante a gestação girou em torno de 10%. Segundos os autores, o hábito de fumar acarretou um decréscimo de 19 a 26% de lipídios e reduziu o volume de leite produzido devido a inibição da atividade hepática dos constituintes lipídicos do sangue materno.

Na coorte de Baheiraei et al. (2014) foram coletados no primeiro momento o colostro (entre 5 e 7 dias pós-parto) e no segundo, o leite maduro (4 meses) para avaliar o efeito do fumo passivo na composição lipídica do leite materno. Nas duas análises, observou-se que o leite das 40 mães não-expostas ao fumo passivo apresentou maior perfil lipídico (triglicerídeo 706,3 e 579,8 mg/dl) comparado às 45 mães do grupo exposto (triglicerídeo 503,7 e 375,4 mg/dl). Os autores sugeriram que o efeito cumulativo da exposição ao tabagismo passivo antes da gestação altera o acúmulo de lipídios e que as mães expostas ao fumo, geralmente, consomem menos energia ao longo da lactação.

No estudo longitudinal conduzido por Kim et al. (2017), com oito mulheres fumantes e 17 não fumantes, observou-se que o leite de mães fumantes apresentaram menores teores lipídicos e proteicos em relação às demais. O comprometimento da composição desses macronutrientes deve estar associado ao elevado estresse oxidativo que o fumo acarreta para tais frações proteicas e lipídicas do leite humano.

Bachour et al. (2012), em estudo transversal, coletaram leites de transição e maduro de 23 fumantes e 43 não fumantes, e observaram em suas análises que a concentração média de lipídios e proteínas foi superior entre as mães não-fumantes (42,45mg/mL; 14,94mg/mL) em relação às fumantes (31,14mg/mL; 13,10mg/mL), respectivamente. Semelhantemente, no estudo de coorte observacional de Burianova et al. (2019) com 192 mulheres, 13 eram fumantes e 179 eram não-fumantes, foi encontrada associação entre o maior teor de energia e lipídio no leite maduro das lactantes não-fumantes em comparação às fumantes. Em ambos os estudos os autores sugeriram que as substâncias nocivas do fumo se agregam nas células adiposas e nas glândulas mamárias interferindo na lactogênese.

4.5.5 Ingesta de álcool

O álcool é uma substância psicoativa que pode causar dependência, e o seu abuso pode causar doenças, problemas socioeconômicos e com segurança (OPAS, 2019).

Popularmente há incentivo ao consumo de cerveja às lactantes para aumentar o volume de leite humano. No entanto, o álcool tem efeito contrário, pois reduz o volume de leite e altera o seu sabor (Kolasa et al., 2015).

Em um estudo observacional onde 23 lactantes consumiram em duas ocasiões distintas, uma sopa alcoólica e outra não alcoólica. Foi observado que o consumo de sopa alcoólica aumentou os níveis de triacilglicerol e retardou o tempo de ejeção do leite pelo efeito do álcool. Os autores sugeriram que a influência da sopa alcoólica na composição nutricional do leite pode ser por apresentar maior quantidade de lipídio e caloria em relação a sopa não alcoólica (Chien et al., 2008).

No estudo longitudinal de Mennella (1998), 22 mulheres ingeriram por uma semana suco de laranja com teor alcoólico e na outra semana suco de laranja sem teor alcoólico. Cada amostra de leite foi coletada em dois momentos, imediatamente após o consumo do suco com e sem álcool e após duas horas da ingestão. Não houve diferença no teor de gordura e calórico do leite materno, mas a produção de leite foi diminuída pela ingestão do álcool, possivelmente devido ao impedimento dos estímulos da sucção causados pelo bloqueio da prolactina.

Apesar desses efeitos do álcool sobre o leite humano, ainda são escassos os estudos que se detiveram na avaliação entre a associação do consumo de álcool e a composição nutricional do leite humano.

4.5.6 Morbidades maternas

4.5.6.1 Hipertensão arterial

A hipertensão arterial crônica é aquela que está presente antes da gravidez, ou diagnosticada antes da 20ª semana de gestação ou aquela diagnosticada pela primeira vez durante a gravidez e que não normaliza no pós-parto (Freire & Tedoldi, 2009).

A definição de hipertensão arterial crônica e na gravidez considera os valores absolutos de PA sistólica ≥ 140 mmHg e/ou diastólica ≥ 90 mmHg, considerando-se o 5º ruído de Korotkoff, confirmada por outra medida realizada com intervalo de quatro horas (FEBRASGO, 2017).

Essa doença crônica é agravada por dislipidemia, obesidade abdominal, intolerância à glicose e diabetes mellitus, e está associada a morte súbita, acidente vascular encefálico, infarto do miocárdio, entre outros (SBC, 2017). Existem inúmeros fatores associados ao desencadeamento dessa doença, dentre esses se destacam: a obesidade, às condições socioeconômicas, o estresse e as questões relacionadas ao seu papel na família (Lobo et al., 2017).

No Brasil, a hipertensão arterial gestacional causa 20% de mortes maternas, e cerca de 70% das internações em centros de referência de gestações de alto risco são acarretadas por essa doença crônica (SES/SP, 2018).

Em relação a associação entre hipertensão arterial e composição nutricional do leite humano, o estudo longitudinal conduzido por Massmann et al. (2013) analisou o colostro e o leite maduro de 13 mulheres normotensas e dez hipertensas. Os autores observaram que tanto o colostro quanto o leite maduro de mães hipertensas apresentaram níveis mais elevados de proteína total que refletiram nas concentrações de anticorpos e proteínas do sistema imunológico, aumentando os níveis de IgG e IgA. Os autores sugeriram que a hipertensão altera a atuação das citocinas na glândula mamária.

Destaca-se que a avaliação da associação entre a hipertensão arterial e a composição nutricional do leite materno ainda é escassa na literatura.

4.5.6.2 Diabetes mellitus

O diabetes mellitus (DM) consiste em um distúrbio metabólico caracterizado por hiperglicemia persistente, decorrente de deficiência na produção de insulina ou na sua ação, ou em ambos os mecanismos (SBD, 2017).

A Sociedade Brasileira de Diabetes estabelece quatro classes clínicas para essa doença crônica, a saber: DM tipo 1, DM tipo 2, outros tipos específicos de DM e DM gestacional (SBD, 2017).

Em 2013, a Pesquisa Nacional de Saúde estimou que no Brasil 6,2% da população com 18 anos ou mais referiram diagnóstico médico de diabetes, sendo 7,0% nas mulheres (IBGE, 2014).

Sobre a associação entre diabetes mellitus e composição nutricional do leite materno, alguns estudos verificaram que o leite materno de mulheres com diabetes continha maiores níveis de glicose e de insulina em comparação ao leite de mães saudáveis (Neubauer et al., 1993; Van Beusekom et al., 1993). Já na revisão sistemática conduzida por Amaral et al. (2017), foi observada que a concentração de lactose e de gordura no leite de mulheres com diabetes foi inferior em relação às não diabéticas. Além disso, um artigo selecionado para essa revisão encontrou menor valor proteico e maior valor energético no leite das mulheres diabéticas.

O estudo transversal conduzido por Morceli et al. (2011) avaliou a composição nutricional do colostro de 30 mulheres diabéticas e 15 normoglicêmicas. A amostra foi coletada entre 48 a 72 horas pós parto. Foi observado menor teor de gordura no colostro de mães diabéticas, entretanto, o conteúdo energético total não modificou. Isso se deve ao

elevado nível de lipase presente no colostro de mulheres diabéticas, o que segundo os autores altera a composição lipídica do leite. No entanto, para assegurar o consumo energético necessário pelo recém-nascido, ocorre rápida conversão de lipídio em energia.

Em um estudo transversal conduzido por Grapov et al. (2015) foram analisados o colostro de seis mulheres com diabetes gestacional e de 12 mulheres sem essa doença. Este estudo observou que o diabetes gestacional acarreta demora na lactogênese e que as proteínas do soro do colostro que participam da síntese de lipídios foram inferiores nas lactantes com diabetes gestacional, o que indica que o leite de mulheres com diabetes gestacional contém pouco conteúdo de lipídios.

Tabela 1. Fatores maternos associados à composição nutricional do leite humano

	Autores	Proteína	Lipídio	Carboidrato	Caloria
Idade materna	Hausman et al. (2013)		↑ >35 anos		
	Lubetzky et al. (2015)		↑ >35 anos	↑ > 35 anos	
	Hahn et al. (2018)		↑+velhas sobrepeso		↑+velhas sobrepeso
	Álvarez de Acosta et al. (2013)				≅ em ambos
Estado nutricional pré-gestacional e atual	Mangel et al. (2017)	↑sobrepeso			
	Burianova et al. (2019)		↑sobrepeso		↑sobrepeso
	Bachour et al. (2012)	↓sobrepeso			
	Nommsen et al. (1991)		↑sobrepeso		
Tabagismo	Hahn et al. (2018)	↑ 20 anos sobrepeso	↑ 20 anos eutrófica		
	Baheiraei et al. (2014)		↓ fumo passivo		
	Kim et al. (2017)	↓ fumante	↓ fumante		
	Bachour et al. (2012)	↓ fumante	↓ fumante		
Ingesta de álcool	Burianova et al. (2019)		↓ fumante		↓fumante
	Chien et al. (2008)				
	Mennella (1998)				
Hipertensão arterial	Massman et al. (2013)	↑hipertensão			
Diabetes mellitus	Morceli et al. (2011)		↓diabetes		não modificou
	Grapov et al. (2015)		↓diabetes		

4.5.7 Fatores perinatais associados à composição nutricional do leite humano

Alguns estudos observaram a influência de fatores perinatais na composição nutricional do leite humano, tais como, sexo do bebê (Powe et al., 2010; Thakkar et al., 2013), tipo de parto (Hahn et al., 2017), peso do bebê (Phattraprayoon et al., 2018) e a prematuridade (He et al., 2014).

4.5.7.1 Sexo do recém-nascido

O sexo se apresenta como um fator de desequilíbrio desde a concepção. Prematuridade, nascimento com baixo peso e aborto espontâneo ocorrem com maior frequência nos recém-nascidos de sexo masculino por baixa resposta adaptativa de se ajustarem às condições de estresse pré-natal. As meninas têm maiores chances de sobrevivência, mesmo em condições adversas, tais como a fome e o nascimento prematuro (Alur, 2019). A placenta interfere no desenvolvimento segundo o sexo do feto através de alterações epigenéticas, codificação gênica e desenvolvimento e resposta imune (Zazara & Arck, 2019).

Em relação à composição nutricional, alguns estudos observaram a sua associação com o sexo do recém-nascido (Fujita et al., 2012; Powe et al., 2010).

Fujita et al. (2012), em estudo transversal no Quênia analisaram o leite de 36 mães de meninas e 47 mães de meninos. Os autores observaram que mães abastadas produziram leite com maior teor de lipídios para os meninos. Powe et al. (2010) analisaram 25 amostras de leite maduro (13 mães de meninos e 12 mães de meninas) e verificaram maior conteúdo energético no leite de mães de meninos. O estudo demonstrou que as mães de meninos tinham mamas maiores em relação às mães de meninas e que esse aumento de tecido mamário seria influenciado pela ação de hormônios secretados pela placenta na gestação de meninos.

De forma semelhante, Hahn et al. (2017), em seu estudo com 244 mães de meninos e 234 mães de meninas, também conduziram um estudo transversal e observaram que o leite de mães de meninos continha valor energético superior em relação ao leite das mães de meninas. Os autores relataram que os mecanismos de associação entre sexo do recém-nascido e a composição nutricional do leite humano não são claros.

Thakkar et al. (2013), em um estudo longitudinal com 50 mulheres (25 mães de meninas e 25 mães de meninos), observaram que o lipídio e a energia do leite maduro de mães de meninos eram superiores em relação ao leite das mães de meninas, e que ao longo da lactação o conteúdo lipídico e energético permaneceram superior no leite de mães de meninos. Outrossim, Fischer Fumeaux et al. (2019), em seu estudo longitudinal, com 27 mulheres mães de prematuros e 34 mulheres mães de lactentes nascidos a termo, observaram que o leite dos recém-nascidos do sexo masculino tinham quantidade superior de lipídio e de energia. O teor de proteína também foi superior no leite de mães de meninos nos dois grupos. De acordo com os autores de ambos os estudos, os meninos necessitam de um investimento nutricional adicional para enfrentar o estresse ambiental durante seu crescimento e desenvolvimento, além da taxa de crescimento ser diferente entre os sexos, o que gera uma necessidade energética superior.

No estudo de Van Sadelhoff et al. (2018) foi observado que o conteúdo de aminoácidos totais e proteico foi maior no leite de mães de meninas, enquanto que o leite de mães de meninos apresentou maior quantidade de glutamina livre. Os autores sugerem que o consumo de aminoácido é o que pode resultar na diferença de crescimento entre os sexos, associando o maior consumo de glutamina livre nos três primeiros meses em neonatos do sexo masculino. Todavia, o estudo de Quinn (2013) com 103 mulheres, 52 mães de meninos e 51 mães de meninas, não observou associação entre sexo e composição nutricional do colostro, leite de transição e maduro. Para a autora, a influência do sexo infantil sobre a

composição nutricional do leite humano não é conclusiva, pois o volume de leite consumido pelo recém-nascido pode variar com a demanda, o que não pode ser relacionado com alteração na composição do leite. Portanto mais estudos são necessários para esclarecer tal associação.

4.5.7.2 Tipo de parto

Dizdar et al. (2014) verificaram que o parto normal foi associado a maior teor proteico no colostro. Todavia, os resultados foram dispares em relação ao estudo de coorte que analisou amostras de colostro e leite maduro de 192 mulheres que tiveram parto prematuro (68 tiveram parto vaginal e 124 tiveram parto cesáreo). Nesse estudo foi encontrado maior teor de carboidrato no colostro de mulheres que tiveram parto vaginal e maior teor de proteína no leite maduro em mulheres que tiveram parto cesáreo durante as seis semanas após o parto (Burianova et al., 2019).

No estudo transversal conduzido por Hahn et al. (2017) com 478 mulheres (349 parto vaginal e 129 parto cesárea) foi observado maior teor de lipídio e menor teor de carboidrato no colostro, leite de transição e maduro das mulheres que tiveram parto cesárea, sem mudanças na caloria.

Em um estudo longitudinal, o leite de 36 mães (17 parto normal e 19 parto cesariana com analgésico opióide petidina-PCEA) foi coletados em três momentos distintos. Foi observado que nas primeiras 72h após o parto, a concentração de lactose foi maior no grupo de parto vaginal. Entre 72-165 h após o parto, a concentração de proteína foi inferior entre as mulheres que tiveram parto normal. Após esse período, não houve diferenças significativas entre os grupos. Os autores sugeriram que modificações bioquímicas no grupo do parto cesárea foi mais rápido em relação ao grupo de parto vaginal devido o uso de petidina-PCEA (Tie et al., 2017).

4.5.7.3 Baixo peso ao nascer

O termo baixo peso ao nascer é usado para aqueles nascidos abaixo de 2500 gramas independentemente da idade gestacional, muito baixo peso ao nascer para aqueles menores de 1500 gramas e o extremamente baixo peso ao nascer, abaixo de 1000 gramas (OMS, 1977; UNICEF & OMS, 2004). O baixo peso ao nascer é decorrente de parto prematuro, crescimento intrauterino restrito ou ambos. O recém-nascido pode ser classificado como pequeno para a idade gestacional cujo o peso no parto é inferior ao percentil 10 para a idade gestacional (Cutland et al., 2017).

Esse desfecho está associado tanto a mortalidade fetal e neonatal quanto a morbidade, o desenvolvimento cognitivo e o crescimento prejudicados. Como consequência do crescimento fetal intrauterino, o indivíduo tem maiores chances de apresentar menor crescimento na infância e doenças crônicas na vida adulta (UNICEF & OMS, 2004).

A nutrição adequada para lactentes nascidos com baixo ou muito baixo ao nascer constituem um desafio para crescimento e desenvolvimento satisfatórios. Isso ocorre devido a grande necessidade de nutrientes, tais como a proteína, que exerce papel importante no crescimento da circunferência da cabeça, o cálcio e o fósforo, que são micronutrientes essenciais para adequado desenvolvimento ósseo, entre outros (Sparks et al., 2014).

Domany et al. (2015) em seu estudo observacional, com 56 mães de 26 recém-nascidos pequenos para a idade gestacional e 30, adequados para a idade gestacional, coletaram amostras de leite humano em 72 horas, sete dias e 14 dias após o parto e realizaram análise de lipídio através do crematócrito. Os autores observaram que os valores de lipídeos nos três momentos foram similares nas duas primeiras semanas após o parto, indicando que o baixo peso ao nascer não tem correlação ao conteúdo lipídico do leite humano. O estudo observou que o consumo de nutrientes deve ser suficiente para ganho de peso gradual,

evitando assim a predisposição a doenças crônicas na vida adulta através do rápido ganho de peso.

Em um estudo transversal com 75 lactantes, foram coletados 25 amostras de leite de mães de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional, 25, adequados para idade gestacional e 25, grandes para a idade gestacional. O leite de mães de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional apresentaram uma quantidade inferior de carboidrato quando comparado ao leite dos outros dois grupos, sendo que esse valor não é expressivamente relevante quando se leva em conta a quantidade de leite consumida pelo recém-nascido (Phattraprayoon et al., 2018).

O estudo transversal conduzido por Santiago et al. (2018), com 33 mães de recém-nascidos prematuros pequenos para a idade gestacional, 60 mães de prematuros adequados para a idade gestacional, 59 mães de nascido a termo pequenos para a idade gestacional e 73 mães de recém-nascidos a termo adequados para a idade gestacional, analisou amostras de colostro coletadas entre 24 e 72 horas após o parto. O resultado do conteúdo energético dos grupos foi significante maior entre os pretermos pequenos para a idade gestacional. Os autores avaliaram que a lactação sofre alterações fisiológicas se adaptando para compensar a desvantagem ocorrida durante a gestação.

4.5.7.4 Prematuridade

A Organização Mundial de Saúde OMS (1977) define classicamente a prematuridade quando o nascimento ocorre antes da 37ª semana gestacional (259 dias de gestação) com base no início da data da última menstruação.

Já a OMS (2012) e a Academia Americana de Pediatria (AAP, 2017) compartilham da mesma categorização da prematuridade de acordo com a idade gestacional no parto em extremamente prematuro (<28 semanas), muito prematuro (28 a <32 semanas) e prematuro

moderado a tardio (32 a <37 semanas). A prematuridade moderada e tardia foram subcategorizadas em 32 e 33 semanas (moderada) e entre 34 a <37 semanas (tardia) apenas pela APP (2017). Tais critérios foram adotados pela Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP, 2017).

A prematuridade é a segunda principal causa de óbito infantil, sobretudo no primeiro mês de vida. Em decorrência de um nascimento antecipado, o prematuro necessita de constantes intervenções e estão mais suscetíveis a diversas morbidades como paralisia cerebral, doença pulmonar crônica e prejuízo da acuidade visual e auditiva (OMS, 2012).

O nascimento prematuro pode ocorrer em decorrência de hemorragia ou descolamento de placenta, distensão uterina, incompetência istmocervical, mudanças hormonais, infecções bacterianas, inflamações, gemelaridade devido a reprodução assistida, idade materna, desvio nutricional materno, estresse, tabagismo e histórico prévio de parto prematuro (Quinn et al., 2016).

He et al. (2014) avaliaram a composição nutricional do leite de 82 mães de pretermos – divididos em três subgrupos - e 88 mães de nascidos a termo. O colostro das mães de prematuros nascidos antes da 30^a semana apresentou teor proteico superior em relação ao colostro de mães de prematuros nascidos entre a 30^a e 33^a semana e das mães que tiveram parto após a 34^a semana. Já o teor energético do colostro de mulheres que tiveram parto antes da 30^a semana foi inferior em relação ao colostro de mães de nascidos com idade gestacional entre a 30^a e 33^a semana gestacional. Quanto ao carboidrato, foi observado que o leite de transição de mães de prematuros nascidos antes da 30^a semana foi superior em relação ao leite de mães de prematuros nascidos entre a 30^a e 33^a semana e de mães que tiveram parto depois da 34^a semana gestacional. No leite maduro, a proteína foi superior no leite de mães de prematuros nascidos entre a 30^a e 33^a semana em relação às mães de recém-nascidos com idade gestacional de menor que a 30^a semana e maior que a 34^a semana gestacional.

Um estudo longitudinal foi realizado com 88 mães divididas em quatro grupos: 22 tiveram parto entre a 24^a e 27^a, 25, entre a 28^a e 30^a, 25, entre a 32^a e a 36^a e 16, entre a 37^a e 41^a semanas gestacionais. Foi observado que o lipídio do leite de mães de partos extremamente prematuro (24^a e 27^a) e muito prematuro (28^a e 30^a) foi inferior deão do leite de mães de prematuro moderado (32^a e a 36^a) e o nascido a termo (37^a e 41^a). A proteína foi maior no leite de mães de prematuros extremos e de muito prematuro. O carboidrato foi superior no leite de mães de prematuros moderados e nascidos a termo e a energia foi inferior no leite de mães de extremamente prematuros (Léké et al., 2019).

Bauer & Gerss (2011) em seu estudo longitudinal com 112 participantes, dividiram as lactantes em quatro grupos: 42 mães de extremamente prematuro (abaixo de 28 semanas de gestação), 40, de severamente prematuro (28 e 31 semanas), 20, de moderadamente prematuro (32 e 33 semanas) e 10 lactantes que tiveram parto a termo. O leite de mães de recém-nascidos extremamente prematuro apresentaram maiores teores de proteína, carboidrato, lipídio e energia em relação ao leite de mães recém-nascidos a termo. Para os autores dos dois estudos, é possível que a assimetria nos teores dos macronutrientes ocorra devido a antecipação do parto, alterando o ciclo dos hormônios da lactação e pela imaturidade das glândulas mamárias.

Fischer Fumeaux et al. (2019) em seu estudo longitudinal, com 27 mulheres mães de prematuros e 34 mulheres mães de lactentes nascidos a termo, observaram que o carboidrato foi superior no leite de mães de prematuros. Não foram encontradas diferenças significativas no conteúdo de proteína nos leites de mães de prematuros e de nascidos a termo. O leite de mães de prematuro tinha maior teor de gordura e caloria nas duas primeiras semanas e o leite de mães de nascidos a termo tinha mais gordura e energia após três a oito semanas pós parto. Para os autores, a composição nutricional do leite varia durante a lactação inter e intraindividuo, correspondendo a adaptações.

Tabela 2. Fatores perinatais associados à composição nutricional do leite humano

	Autores	Proteína	Lipídio	Carboidrato	Caloria
Sexo do recém-nascido	Fujita et al. (2012)		↑menino		
	Powe et al. (2010)				↑menino
	Hahn et al (2017)				↑menino
	Thakkar et al. (2013)		↑menino		↑menino
	Fischer Fumeaux et al. (2019)		↑menino		↑menino
	Van Sadelhof et al. (2018)	↑menina			
	Quinn (2013)				
Tipo de parto	Dizdar et al (2013)	↓ cesárea			
	Burianova et al.(2019)	↓ cesárea		↑ cesárea	
	Hahn et al (2016)		↑ cesárea	↓ cesárea	≅
	Tie et al (2017)	↑ 72-165 h cesárea		↓ 72 h cesárea	
Peso ao nascer	Domany et al. (2015)		≅		
	Phattraprayoon et al. (2018)			↑ pig	
	Santiago et al. (2018)				↑ pt-pig
Prematuridade	He et al. (2014)	↑ colostro pt extremo	↑pt moderado	↑pt moderado	↑pt moderado
	Léké et al. (2019)	↑ptextremo e moderado	↑ptmoderado e termo	↑ptmoderado e termo	
	Bauer & Gerss (2011)	↑pt extremo	↑ pt extremo	↑ pt extremo	↑ pt extremo
	Fischer Fumeaux et al. (2019)		↑ pmt: início ↑termo: 3-8sem		↑ pmt: início ↑termo: 3-8sem

5. HIPÓTESE

Fatores maternos e perinatais modificam a composição nutricional do leite humano.

6. MÉTODOS

6.1 Descrição do estudo

O presente trabalho, realizado em duas fases, foi conduzido pelos pesquisadores do Banco de Leite Humano em conjunto com o grupo de Pesquisa Clínica em Saúde da Criança e da Mulher do Instituto Nacional da Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz).

6.2 Revisão sistemática (fase 1)

Foi realizada uma revisão sistemática utilizando protocolo pré-estabelecido para a busca, seleção e extração de dados. A busca dos artigos, ocorreu no período de 22 de novembro a 19 de dezembro de 2018, nas seguintes bases de dados: Pubmed, Scopus, Embase, Web of Science e Biblioteca Virtual em Saúde. Para essa busca foram utilizados os seguintes descritores: (human milk composition) AND (gender OR sex). A estratégia de buscas resultou em 1.278 títulos, sendo removidos 20 artigos repetidos. Desse total, oito artigos foram selecionados para leitura dos resumos e seis restaram para leitura integral. Foram selecionados cinco artigos publicados entre 2010 e 2016 para compor esta revisão. Os critérios de inclusão foram estudos que avaliaram a associação entre o sexo do neonato e pelo menos um macronutriente (proteína, lipídio e/ou carboidrato) e/ou energia do leite humano. Foram excluídos os artigos que avaliaram a associação entre o sexo ou composição nutricional com os seguintes desfechos: microbiota, oligossacarídeos, aminoácidos, fibrose cística, ácidos graxos, membrana do glóbulo de gordura, fatores imunológicos, revisão narrativa, entre outros.

6.3 Descrição do estudo (fase 2)

O estudo realizado consistiu em uma análise observacional transversal, cuja coleta de dados ocorreu entre Novembro de 2018 e Janeiro de 2020.

6.4 Critérios de elegibilidade

Foram recrutadas mulheres que atenderem aos seguintes critérios de elegibilidade:

- Ser doadora do BLH;
- Ser considerada apta pelo médico do BLH após apresentar exames de saúde

(Hemograma completo, VDRL, anti-HIV, HCV).

- Ter produção excedente de leite maduro;
- Não fazer uso de drogas ilícitas;
- Não fazer uso de medicamentos incompatíveis com a amamentação (Brasil, 2014);
- Não ter doenças infectocontagiosas.

6.5 Critérios de exclusão

Foram excluídas amostras de leite que apresentaram a seguinte não conformidade, seguindo a legislação da rBLH-BR, RDC Nº 171/2006:

- Acidez Dornic acima de 8° D.

Outras não conformidades citadas na RDC Nº 171/2006 (sujidade, cor, flavor) não foram usadas como critérios de exclusão. As amostras possuíam volumes pequenos e somente se destinavam a pesquisa e não ao consumo, não necessitando de avaliação seguindo todos os critérios da legislação.

6.6 Estudo piloto

Foi realizado estudo piloto durante o mês de outubro de 2018 com cinco doadoras do Banco de Leite Humano do IFF a fim de avaliar o questionário. Vale destacar que essas mulheres não compuseram a amostra do estudo. Nessa etapa, o questionário foi testado e também foram avaliadas e padronizadas as entrevistadoras em relação à coleta de dados e às técnicas de abordagem mais adequadas à população de estudo.

6.7 Fluxograma do estudo

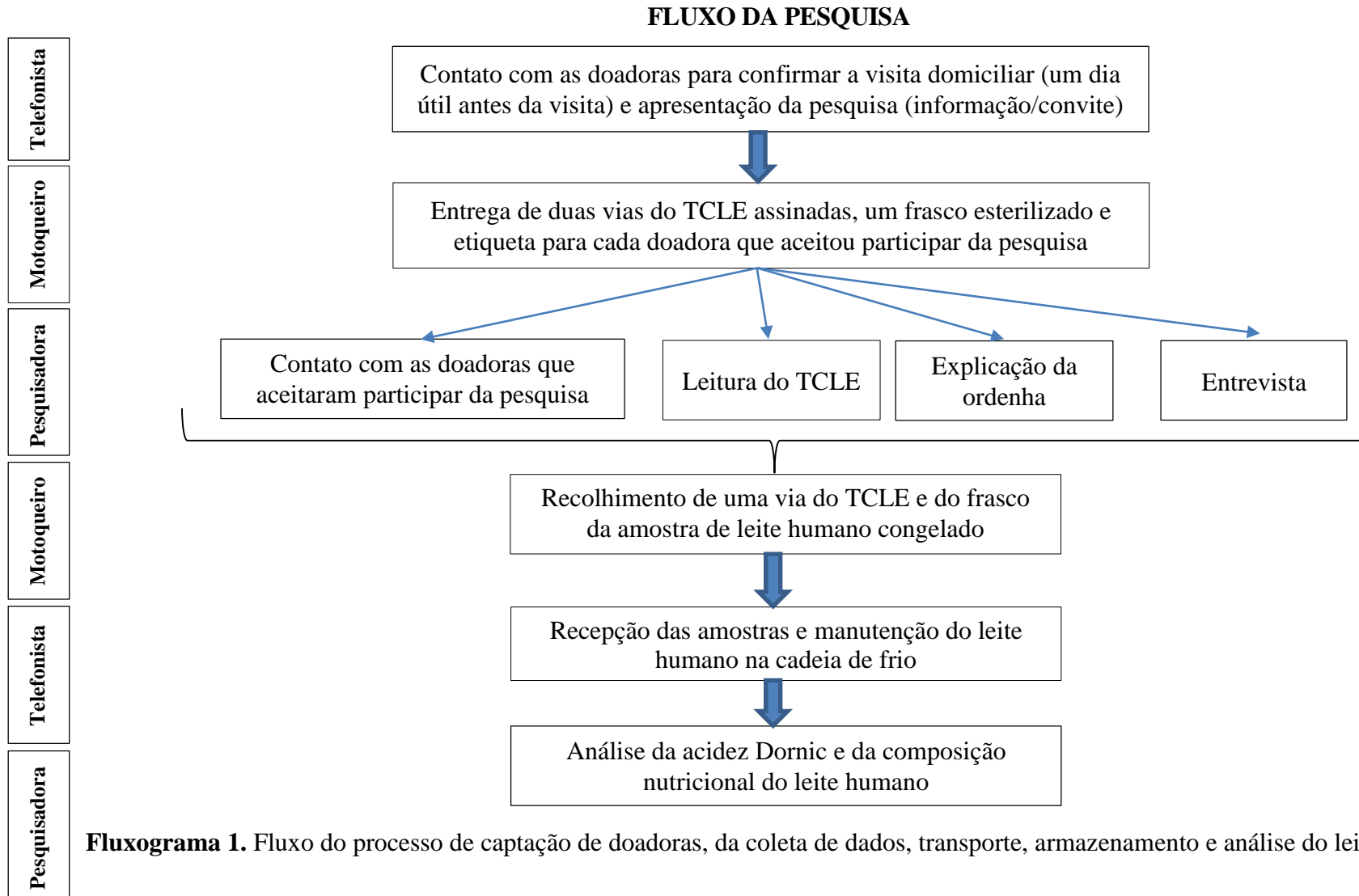
As ações desta pesquisa permeiam a rotina do BLH/IFF, já que as amostras de leite são de doadoras deste BLH que foram selecionadas após a matrícula das mesmas. Durante o processo de confirmação da coleta do leite domiciliar, a telefonista realizava informe sobre a presente pesquisa, explicitando o objetivo geral e se a doadora tinha interesse em participar. Em caso de aceite, a telefonista do BLH informava a doadora que seriam enviados para sua residência no dia da coleta domiciliar do leite duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinadas pela pesquisadora responsável pelo projeto (Apêndice 1), kit para coleta de amostras, contendo: um frasco com uma etiqueta com as seguintes informações (matrícula, nome, data, horário da ordenha, se a coleta do leite foi anterior ou posterior a mamada), orientação escrita para a coleta de um volume de no mínimo 40 mL, orientação para o congelamento imediato das amostras de leite.

Após esse envio, a pesquisadora do estudo apresentava detalhadamente a pesquisa a doadora por contato telefônico, realizava a instrução para o preenchimento da etiqueta enviada, realizava a leitura do TCLE e as devidas instruções sobre a ordenha do leite com base nas normas preconizadas pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 171 e pela Norma Técnica REDEBLH/IFF 16.11 (2011b), a saber: colocar os dedos polegar e indicador no local onde começa a aréola (parte escura da mama), firmar os dedos e empurrar para trás

em direção ao corpo; comprimir suavemente um dedo contra o outro, repetindo esse movimento várias vezes até o leite começar a sair; desprezar os primeiros jatos ou gotas e iniciar a coleta no frasco. Além disso, essas nutrízes, por coletarem o leite em casa, foram instruídas a escolher um lugar limpo, tranquilo e longe de animais; prender e cobrir os cabelos com uma touca ou lenço; evitar conversar durante a retirada do leite ou utilizar uma máscara ou fralda cobrindo o nariz e a boca, lavar as mãos e antebraços com água e sabão e secar em uma toalha limpa.

Após a instrução citada, a pesquisadora aplicava o questionário padronizado (Apêndice 2) com questões sociodemográficas, dados do pré-natal, hábitos maternos (consumo de bebidas alcoólicas, uso de drogas ilícitas e fumo), presença de doenças crônicas, estado nutricional pré-gestacional, ganho de peso gestacional, sexo do bebê, tipo de parto, entre outros.

Após a coleta de dados, a equipe de coleta retornava a casa da doadora para buscar a amostra dos leites que eram transportadas em frásqueira isotérmica com gelo reciclável na temperatura -1°C e armazenada no freezer marca *Consul 280 Termocontrol* a temperatura de -20°C até o momento das análises. Para o transporte das amostras, foi utilizado o serviço de motoboys disponível para o BLH. Destaca-se que foi realizado treinamento com esses profissionais para o acondicionamento das amostras de leite das participantes.



Fluxograma 1. Fluxo do processo de captação de doadoras, da coleta de dados, transporte, armazenamento e análise do leite humano

6.8 Variáveis do estudo transversal

6.8.1 Variável dependente

Composição do perfil de macronutrientes e valor energético do leite humano

Os procedimentos para seleção do leite humano estabelecidos para este estudo foram a determinação da acidez Dornic para posterior avaliação da composição nutricional das amostras consideradas conforme.

Para determinar a acidez do leite humano foi utilizado o método Dornic. A amostra foi uniformizada, coletada em triplicata de 1 ml cada e adicionada uma gota da solução indicadora de fenolftaleína hidroalcoólica a 1% p/v em álcool de 95° GL. A solução padrão para determinar a acidez das amostras (hidróxido de sódio N/9 - Solução Dornic) foi gotejada até que ocorresse a mudança da coloração para rósea-claro. A cada 0,01 ml gasto em 1 ml de leite corresponde a 1°D. A acidez maior que 8°D foi utilizado como parâmetro para exclusão da amostra para as análises subsequentes (BRASIL, 2011a).

A dosagem dos macronutrientes (carboidrato, proteína, lipídio) e da energia total do leite humano foi realizada pela técnica da espectroscopia de transmissão de infravermelho médio utilizando o equipamento Miris™ Human Milk Analyzer (Uppsala, Sweden). A amostra de leite humano foi colocada no banho termostático a 40°C por 5-10 minutos e homogenizada com o Miris Ultrasonic Processor (1.5 s/ml) (“Miris HMA™ Human Milk Analyzer”). O equipamento necessita de um a três ml de leite humano e fornece a leitura de gordura, nitrogênio total, lactose, extrato seco e conteúdo de energia, no tempo de aproximadamente 1 minuto. Para calcular o teor total de energia, o aparelho utiliza a fórmula de energia total ($Kcal = 9,25 \times \text{"gordura"} + 4,40 \times \text{"nitrogênio total"} + 3,95 \times \text{"lactose"}$) (García-Lara et al., 2012).

6.8.2 Variáveis independentes

6.8.2.1 Fatores maternos

Idade: Coletada de forma discreta em anos.

Ingestão de álcool durante e após a gestação: Autorreferido e categorizado em Não e Sim.

Fumo durante e após a gestação: Autorreferido e categorizado em Não e Sim.

Hipertensão arterial sistêmica na gestação e crônica: Autorreferido e categorizado em Não e Sim.

Diabetes mellitus na gestação e crônica: Autorreferido e categorizado em Não e Sim.

Estado nutricional pré-gestacional: O estado nutricional pré-gestacional foi determinado com base nos pontos de corte preconizados pela OMS (1995) (baixo peso – IMC < 18,5 kg/m²; eutrófico - IMC ≥ 18,5 - ≤ 24,9 kg/m²; sobrepeso – IMC ≥ 25,0 - < 30 kg/m²; obesidade – IMC ≥ 30 kg/m²). O peso pré-gestacional e a estatura foram autorreferidos. No caso de a mulher não saber tais informações, a pesquisadora orientou que as mesmas fossem observadas na caderneta da gestante.

Ganho de peso gestacional: O ganho de peso gestacional total foi calculado subtraindo o peso pré-gestacional (linha de base) do peso da última consulta de pré-natal. O peso da mulher nos dois momentos foi autorreferido. No caso da mulher não saber informar o peso, a pesquisadora orientou que as informações fossem observadas na caderneta da gestante. O ganho de peso inadequado foi aquele abaixo do limite inferior ou acima do limite superior recomendado para cada categoria referente ao estado nutricional pré-gestacional. A adequação do ganho de peso foi corrigida pela idade gestacional no nascimento. Para cada semana a menos que 40 semanas (gestação a termo) foi descontado do mínimo e do máximo, para cada faixa de IMC pré-gestacional (OMS, 2005), o ganho de peso médio semanal no

segundo e terceiro trimestres gestacionais. Exemplificando: Gestante com peso pré-gestacional: 58,0 kg, peso ao final da gestação: 70,0 kg, altura: 1,60 m e com idade gestacional de 32,0 semanas. Diagnóstico Nutricional Pré-Gestacional: Eutrófica (IMC pré-gestacional: 22,65 kg/m²). Ganho de Peso Total: 12 kg. Pelo fato de ainda faltarem oito semanas para a ocorrência de nascimento a termo, foi descontado 3,624 kg (0,453 gr x 8 semanas) do peso mínimo e do máximo. Dessa forma, esta gestante deveria ganhar entre 7,876 a 12,376 kg de acordo com a idade gestacional. A classificação da adequação do ganho de peso se deu da seguinte forma: inadequado (< 7,876 kg), adequado (7,876 a 12,376 kg) e excessivo (> 12,376 kg).

6.8.2.2 Fatores perinatais

Sexo do recém-nascido: Autorreferido e categorizado em masculino ou feminino.

Tipo de parto: Autorreferido e categorizado em parto cesárea ou normal.

Peso ao nascer: Autorreferido e coletado de forma contínua em gramas.

Idade gestacional: Autorreferido e coletado de forma contínua em semanas.

6.8.3 Processamento de dados

O questionário de cada doadora foi revisado em dois momentos, após a coleta de dados e na digitação pela própria pesquisadora. O armazenamento dos dados foi realizado no programa EpiData versão 3.1. Os problemas identificados foram solucionados com retorno ao questionário.

6.8.4 Análises estatísticas

A associação dos principais fatores maternos e perinatais na composição nutricional do leite humano doado foi avaliada especificamente em separado: carboidrato, lipídio,

proteína e energia através de análise bivariada. Para comparar os macronutrientes do leite entre grupos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney se a variável categórica possuía dois grupos ou o teste de Kruskal-Wallis para variáveis categóricas com três ou mais grupos. Para medir o grau de associação entre variáveis contínuas foi utilizado o teste de correlação de Spearman. As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows, versão 22.

6.8.5 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (CEP/IFF) (CAE: 97982918.5.0000.5269) (Anexo 3) e está de acordo com os princípios éticos de não maleficência, beneficência, justiça e autonomia, contidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 2011 - Resolução nº 466/12).

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi lido integralmente por contato telefônico para toda participante antes da entrevista. Vale destacar que foram enviadas duas vias do TCLE para cada doadora que aceitou participar da pesquisa. Uma via assinada ficou com a participante e a outra, foi trazida para o Banco de Leite Humano junto com a amostra congelada do leite pela equipe de coleta.

7. RESULTADOS

7.1 Artigo 1 - The influence of the gender of newborns on human milk composition (Aceito pelo Acta Paediatrica em 03/01/2020)

7.2 Artigo 2 - Composição nutricional do leite humano e associação com fatores maternos e perinatais

7.1 ARTIGO 1

The influence of the gender of newborns on human milk composition

Received: 01 September 2019

Revised: 20 December 2019

Accepted: 03 January 2020

Accepted by *Acta Pædiatrica* published by John Wiley & Sons

This brief report is derived from a postgraduate project that aims to assay the influence of maternal and perinatal factors on the composition of human milk. Such research shows that the gender of the newborn can influence this composition.

We reviewed the literature to determine whether newborn gender modified the nutritional composition of human milk. This review identified five papers published between 2010 and 2016 that were of particular interest.

Human milk can be modified by physiological, biological and social conditions. Maternal characteristics, such as diet and genetics,[1] vary according to the circadian cycle and during breastfeeding,[2] as well as according to age, body composition, length of lactation and mode of delivery.[3]

Regarding the methods used to assay macronutrients, there was a disparity among these studies (Supporting Information Table S1). There are several methods of assessing the nutritional composition of human milk, one of which is the use of the Miris equipment, a human milk analyser that utilises mid-infrared transmission spectroscopy, which is used for the analysis of macronutrients and energy values.[1, 3] Other methodological points are related to the milk phases, the moment of expression and the method of collection.

A cross-sectional study with a sample size of 25 women—13 mothers of boys and 12 mothers of girls—was conducted by Powe et al in the United States. Another study was a longitudinal study with 50 women—25 mothers of boys and 25 girls—performed by Thakkar et al in Singapore. In both studies, the collection of mature milk occurred after the emptying of the breast with the use of a pump. Neither study indicated the time of day when the milk was collected.

In a cross-sectional study of 83 mothers—of 47 boys and 36 girls—in Kenya, Fujita et al assayed breast milk—colostrum, transitional milk and mature milk—collected by manual expression in the morning.

In a cross-sectional study in the Philippines, Quinn also analysed milk that was manually expressed. However, the author evaluated the posterior milk—colostrum, transitional milk and mature milk—of 103 mothers of 52 boys and 51 girls; this milk was collected in the morning.

In a study by Hahn et al in the Republic of Korea, anterior and posterior milk samples—colostrum, transitional milk and mature milk—were collected during the day from 478 women—244 mothers of boys and 234 mothers of girls. This study did not mention the collection shift and the milk expression method. The timing of expression is another factor that influences the nutritional composition of human milk. The study by Fujita et al observed that hindmilk has higher lipid content and energy content than does foremilk.

Regarding confounding factors, all selected studies controlled for these variables. However, Thakkar et al and Hahn et al did not control for relevant factors in the analysis, such as food consumption, maternal anthropometric data and socioeconomic conditions.

It is noteworthy that controlling for confounding factors is of paramount importance, since the presence of confounding factors can modify the association between the gender of the newborn and the nutritional composition of human milk.

In their papers, Powe et al., Thakkar et al and Hahn et al found higher energy levels in the milk of boys' mothers. Powe et al justified that the high-energy content in boys' milk may be due to the higher energy demand for their growth and development. In their study, they observed that the breasts of the mothers of boys were larger than those of the mothers of girls. The authors deduced that the change in breast size might be involved in the influence of gender on the energy in breast milk.

Thakkar et al suggested that boys are more vulnerable to environmental stress. Therefore, boys' mothers would produce high-energy milk to supplement their energy needs. The nutritional differences required by boys and girls for their development suggest a gender-

influenced plasticity resulting from a combination of processes from the uterus to the lactation period.

The study by Fujita et al observed that women with adequate economic resources produced milk with higher amounts of lipids for their male children. Unlike the studies cited above, Quinn did not observe significant gender differences in the nutritional composition of milk.

Hahn et al observed a lower amount of carbohydrates in the milk of girls' mothers, the reason for which is unclear according to the authors. The other studies did not find significant variation in the amount of sugars [5] or lactose [1] in the milk of mothers of both sexes.

Additionally, Quinn noted that the protein content is slightly higher in milk supplied to girls, but the difference between the two groups was not significant. While the selected studies differ in the methods employed, it was observed that in most of them, higher amounts of lipids or energy were found in the milk of boys' mothers,[1, 2, 3, 4] showing that the nutritional composition of human milk may differ among mothers based on the gender of their newborns.

The authors state that there is no convincing explanation for this finding yet. However, due to the methodological differences among the articles, other studies are needed to elucidate the association between the gender of newborns and the nutritional composition of human milk.

REFERENCES

1 Thakkar SK, Giuffrida F, Cristina CH, et al Dynamics of human milk nutrient composition of women from Singapore with a special focus on lipids. *Am J Hum Biol.* 2013;25(6):770-779.

2 Fujita M, Roth E, Lo YJ, Hurst C, Vollner J, Kendell A. In poor families, mothers' milk is richer for daughters than sons: a test of Trivers-Willard hypothesis in agropastoral settlements in Northern Kenya. *Am J Phys Anthropol.* 2012;149:52-59.

3 Hahn W-H, Song J-H, Lee JE, Kang N. Do gender and birth height of infant affect calorie of human milk? An association study between human milk macronutrient and various birth factors. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;30(13):1608-1612.

4 Powe CE, Knott CD, Conklin-Britain N. Infant sex predicts breast milk energy content. *Am J Hum Biol.* 2010;22(1):50-54.

5 Quinn EA. No evidence for sex biases in milk macronutrients, energy, or breastfeeding frequency in a sample of Filipino mothers: No Evidence for Sex Biases in Milk Composition in Filipino Mothers. *Am J Phys Anthropol.* 2013;152:209-216.

Table 1. Methods used of the select studies to assay the nutritional composition of human milk and the results

Author	Methods used to evaluate the nutritional composition of human milk	Results
Hahn et al 2016 [3]	Macronutrients and Calories: MIRIS	Gender, age, postpartum and birth height were considered independent factors that modify the calories of human milk
Thakkar et al 2013 [1]	Macronutrients: MIRIS	Human milk for boys has higher energy and lipid contents
Quinn 2013 [5]	Lipid: Roesse-Gottlieb method Protein: CHN Perkins Elmer Sugar: Phenol-sulfuric acid Total energy: conversion factors of 9.25 kcal/g for fat, 5.86 kcal/g of protein and 3.95 kcal/g of sugar	There are no significant differences based on infant gender, socioeconomic status, birth order, breastfeeding frequency with the nutritional composition of human milk
Fujita et al 2012 [2]	Creatocrit	Poor mothers produced milk with higher lipid content for daughters while well-off mothers produced milk with higher lipid content for their children
Powe et al[4]	Total nitrogen: Kjeldahl Crude protein: total nitrogen x 6.25 Free simple sugar: phenol-sulfuric acid Lipids: Modified Method of Official Analytical Chemists Total non-structural carbohydrates: % of fat, % of ash and % of crude protein subtracted of 100% Caloric density: lipid = 9 Kcal/g and carbohydrate and protein = 4 Kcal/g each	Association between increased energy density with male gender and maternal breast size during pregnancy

7.2 ARTIGO 2

Composição nutricional do leite humano e associação com fatores maternos e perinatais

Resumo

Objetivo: Avaliar o perfil das doadoras e a associação entre fatores maternos e perinatais e a composição nutricional do leite humano. **Métodos:** Estudo transversal realizado entre novembro de 2018 e janeiro de 2020 com 181 doadoras de um Posto de Coleta e quatro Bancos de Leite Humano do Município do Rio de Janeiro e um de Duque de Caxias. As variáveis foram coletadas através de um questionário padronizado contendo questões maternas e do recém-nascido. A variável dependente do estudo foi a composição nutricional (proteína, lipídio, carboidrato, energia) do leite humano maduro analisada pelo aparelho Miris™ Human Milk Analyzer que utiliza tecnologia baseada na transmissão de espectroscopia no infravermelho médio. As variáveis independentes do estudo foram a idade, a ingestão de álcool, o fumo, a presença de morbidades maternas (hipertensão arterial e diabetes melittus), o estado nutricional pré-gestacional, o ganho de peso gestacional, o sexo do neonato, o tipo de parto e a idade gestacional no nascimento. As amostras classificadas com acidez igual ou inferior a 8ºD pelo método de Dornic tiveram sua composição nutricional analisada pelo Miris™. **Resultados:** A obesidade pré-gestacional e o ganho de peso gestacional acima do recomendado acarretaram redução da quantidade proteica do leite humano. **Conclusão:** Foi possível observar que importantes fatores maternos reduziram a quantidade proteica do leite humano. Espera-se que os resultados deste estudo possam contribuir para aprofundar o conhecimento desses fatores, ratificando a importância das consultas periconcepcional e pré-natal para a adequação do estado nutricional e ganho de peso materno.

Palavras-chaves: Leite Humano; Aleitamento Materno; Nutrição do lactente; Banco de Leite, Macronutrientes

Introdução

O aleitamento materno é incontestavelmente a melhor estratégia na saúde das mulheres e dos recém-nascidos, sendo o agente de redução da mortalidade infantil (Boccolini et al., 2017).

As políticas de saúde pública se apoiam nas ações assistenciais dos Bancos de Leite Humano (BLH) que visam a promoção, a proteção e o apoio às gestantes, nutrizes e aos recém-nascidos internados vulneráveis (prematuros, baixo peso ao nascer, de alto risco, operados ou indicados a cirurgia) (Fonseca et al., 2019).

O uso de leite humano ordenhado pasteurizado (LHOP) nos BLHs, é em sua grande maioria leite doado por mães que tiveram a gestação a termo (Aprile & Feferbaum, 2011). O leite doado apresenta importantes variações em sua composição que pode ser influenciada por alguns fatores, tais como o estado nutricional da gestante, a idade materna (Álvarez de Acosta et al., 2013), o estilo de vida, a ingestão alimentar materna (Costa & Sabarense, 2010), distúrbios maternos (hipertensão arterial e diabetes mellitus), o estágio da lactação (Masmann et al., 2015; Dritsakou et al., 2016), o sexo da criança (Thakkar et al., 2013), entre outros.

A Organização Mundial da Saúde e o Fundo das Nações Unidas (Unicef) (2004), a Academia Americana de Pediatria (2012) e o Ministério da Saúde (2015) têm declarado que o LHOP é o melhor substituto para o recém-nascido na impossibilidade do leite da própria mãe. Todavia, ainda há controvérsias sobre essa adequação quando se detém sobre o grupo dos recém-nascidos de muito baixo peso e os prematuros (Van Goudoever, 2018; Arslanoglu et al., 2019).

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a associação entre fatores maternos/perinatais e a composição nutricional do leite humano de doadoras de BLH para auxiliar na adequação da distribuição do leite com base na necessidade nutricional do recém-nascido internado.

Métodos

O presente trabalho consiste em um estudo transversal aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (CEP/IFF) (CAE: 97982918.5.0000.5269) e está de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 2011 - Resolução nº 466/12).

Foram convidadas a participar do estudo doadoras de um posto de coleta, quatro Bancos de Leite Humano do Município do Rio de Janeiro e um de Duque de Caxias. Os dados foram coletados de Novembro de 2018 a Janeiro de 2020.

Os critérios de elegibilidade para participar do estudo foram: ser considerada apta a ser doadora em Bancos de Leite Humano segundo a Resolução da Diretoria Colegiada Nº 171/2006 e estar produzindo leite maduro. Foram excluídas as amostras de leite que apresentaram acidez Dornic acima de 8ºD.

O fluxograma da coleta de dados se deu da seguinte forma - durante o processo de confirmação da coleta do leite domiciliar, a telefonista explicitava o objetivo geral do estudo e se a doadora tinha interesse em participar. Em caso de aceite, a telefonista do BLH informava a doadora que seriam enviados para sua residência no dia da coleta domiciliar do leite duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinadas pela pesquisadora responsável pelo projeto, kit para coleta de amostras, contendo: um frasco com uma etiqueta com as seguintes informações (matrícula, nome, data, horário da ordenha, se a coleta do leite foi anterior ou posterior a mamada), orientação escrita para a coleta de um volume de no mínimo 40 mL e orientação para o congelamento imediato das amostras de leite.

Após esse envio, a pesquisadora do estudo apresentava detalhadamente a pesquisa a doadora por contato telefônico, realizava a instrução para o preenchimento da etiqueta enviada, realizava a leitura do TCLE e as devidas instruções sobre a ordenha do leite com

base nas normas preconizadas pela RDC Nº 171/2006 e pela Norma Técnica REDEBLH/IFF 16.11 (2011a). Após esse momento, era aplicado questionário padronizado (com questões sociodemográficas, dados do pré-natal, hábitos maternos) que foi pré-testado durante o treinamento de campo e estudo piloto.

Após essa etapa, a equipe de coleta retornava a casa da doadora para buscar a amostra dos leites que eram transportadas em frasqueira isotérmica com gelo reciclável na temperatura -1°C e armazenada no freezer marca *Consul 280 Termocontrol* a temperatura de -20°C até o momento das análises. Destaca-se que foi realizado treinamento com esses profissionais para o acondicionamento das amostras de leite das participantes.

Para determinação da acidez do leite humano foi utilizado o método Dornic. A amostra foi uniformizada, coletada em triplicata de 1 ml cada e adicionada uma gota da solução indicadora de fenoltaleína hidroalcoólica a 1% p/v em álcool de 95°GL . A solução padrão hidróxido de sódio N/9 - Solução Dornic foi gotejada até a mudança da coloração para rósea-claro. A acidez maior que 8°D foi utilizada como parâmetro para exclusão da amostra para as análises subsequentes (BRASIL, 2011b). Do total de 314 amostras de leite coletadas, restaram 181 aprovadas após a análise de acidez do leite.

A variável dependente analisada foi a composição nutricional do leite humano (carboidrato, proteína, lipídio, energia total) que foi analisada pela técnica da espectroscopia de transmissão de infravermelho médio utilizando o equipamento Miris HMATM- Human Milk Analyzer (Uppsala, Sweden). A amostra de leite humano foi colocada no banho termostático a 40°C por 5-10 minutos e homogeneizada com o Miris Ultrasonic Processor (1.5 s/ml) (“Miris HMATM Human Milk Analyzer”). O equipamento necessita de 1 a 3 ml de leite humano e fornece a leitura de gordura, nitrogênio total, lactose, extrato seco e conteúdo de energia, no tempo de aproximadamente um minuto. O analisador de leite humano MIRIS

necessita de ajuste de calibração que foi realizada antes do uso e a cada 10 amostras analisadas.

As variáveis independentes foram a idade, a ingestão de álcool durante e após a gestação, o fumo durante e após a gestação, a presença de morbidades maternas (hipertensão arterial e diabetes mellitus, ambas gestacionais e crônicas), o estado nutricional pré-gestacional, o ganho de peso gestacional, o sexo do neonato, o tipo de parto e a idade gestacional no parto.

Para classificação do estado nutricional pré-gestacional, adotou-se, conforme preconizado pelo Institute of Medicine (IOM, 2009) as categorias do Índice de Massa Corporal (IMC) definidas a partir dos pontos de corte recomendados pela OMS (1995): baixo peso ($\leq 18,5 \text{ kg/m}^2$); eutróficas ($\geq 18,5$ a $\leq 24,9 \text{ kg/m}^2$); sobrepeso (> 25 a $\leq 29,9 \text{ kg/m}^2$) e obesas ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$). O peso e altura da mulher foram autorreferidos.

O ganho de peso gestacional total foi calculado subtraindo o peso pré-gestacional (linha de base) do peso da última consulta de pré-natal. O peso da mulher ao final da gestação foi autorreferido. Quando a mulher não se lembrava dessa informação, esse dado foi verificado por ela no cartão de pré-natal. Para o presente estudo, a adequação do ganho de peso foi classificada em três categorias com base no estado nutricional pré-gestacional de acordo com as diretrizes do IOM (2009): adequado, insuficiente, excessivo. A adequação do ganho de peso foi corrigida pela idade gestacional no nascimento. Para cada semana a menos que 40 semanas (gestação a termo) foi descontado do mínimo e do máximo, para cada faixa de IMC pré-gestacional, o ganho de peso médio semanal no segundo e terceiro trimestres gestacionais considerando a idade gestacional do nascimento.

As variáveis numéricas foram expressas em termos da média e desvio-padrão ou como medianas e percentis 25 e 75. As variáveis categóricas foram apresentadas como frequências absolutas e percentuais. Para avaliar a relação entre a composição nutricional do

leite humano e as variáveis independentes na forma contínua utilizou-se a análise de correlação de Spearman. A comparação dos macronutrientes do leite entre as variáveis independentes na forma categórica foi realizada através dos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney.

O armazenamento dos dados foi realizado por meio do programa EpiData versão 3.1. As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Package of Social Sciences (SPSS) versão 22, sendo o nível de significância estatística estabelecido para todas as análises de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

A composição nutricional do leite maduro das participantes do estudo apresentaram mediana de lipídio 2,0 g/100mL, carboidrato 8,0 g /100mL, proteínas 1,0 g/100mL e caloria 57,0 Kcal/100mL (Tabela 1).

A média da idade materna foi de 33,11 anos, com variação entre 16 e 43 anos, 79,6% tinham cursado ensino superior completo e 64,10% se autodeclararam branca. A média da idade gestacional foi de 39 semanas e 56,4% realizaram cesariana (Tabela 2).

Sobre os hábitos maternos, 14,4% consumiram bebida alcoólica na gestação e 11,6% durante a amamentação (Tabela 2).

Em relação ao estado nutricional pré-gestacional, 34,8% foram classificadas com excesso de peso e 37% ganharam peso acima do recomendado pelo IOM (2009) (Tabela 2).

A obesidade pré-gestacional e o ganho de peso gestacional acima do recomendado acarretaram redução da quantidade proteica no leite humano.

Discussão

Os benefícios que o aleitamento materno acarreta para a saúde do recém-nascido a curto e a longo prazo são indiscutíveis (Binns et al., 2016). Todavia, ainda é bastante

controverso o entendimento da associação entre fatores maternos e perinatais e a composição nutricional do leite humano, sobretudo em doadoras de Banco de Leite Humano.

Dentre os inúmeros fatores maternos e perinatais avaliados no presente estudo, observou-se que a obesidade pré-gestacional e o ganho de peso gestacional acima do recomendado acarretaram redução da quantidade proteica do leite humano. O excesso de peso se destaca no cenário mundial como um grave problema de saúde pública. A expectativa é que para 2025, 2,3 bilhões de adultos apresentem sobrepeso e mais de 700 milhões, obesidade (ABESO, 2020). No Brasil, 56,9% dos adultos apresentaram excesso de peso, sendo a prevalência no sexo feminino superior, alcançando 58,2%. Com base nos dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o sobrepeso e obesidade entre as mulheres em idade reprodutiva se eleva de acordo com o aumento da idade da mulher, girando em torno de 12% e 3% para as mulheres de 18 a 24 anos e 27,6% e 63,6% entre as mulheres de 35 a 44 anos, respectivamente (IBGE, 2015).

No presente estudo, as mulheres que iniciaram a gestação obesas (9,4%) tiveram conteúdo proteico no leite maduro inferior às demais. O estudo longitudinal de Bachour et al. (2012) com 66 lactantes observou que o leite maduro de 55 lactantes com sobrepeso continha menor concentração de proteínas em relação ao leite de mulheres eutróficas e obesas. Apesar de ter sido observado decréscimo no conteúdo proteico no leite de mulheres com IMC pré-gestacional diferentes ao encontrado pelo presente estudo, é pautado na literatura que o excesso de peso acarreta alterações metabólicas e inflamação reduzindo a quantidade proteica devido ao estresse oxidativo (Burianova et al., 2019). De forma díspare, o estudo transversal de Hahn et al. (2018), com 80 lactantes divididas em quatro subgrupos considerando a idade (20/30 anos) e o IMC (normal e sobrepeso), observou que o teor de proteína no leite foi superior entre as mães com 20 anos com sobrepeso em relação aos três outros grupos. Para os autores, os achados não são claros, podendo ser parcialmente explicado pela interação

entre a idade e o IMC. Destaca-se que as diferenças entre os achados podem ser devido às diferenças dos métodos empregados para a análise do leite (O'Neill et al., 2013; Billard et al., 2016; Giuffrida et al., 2019), o tipo de leite analisado e o momento da coleta do leite (anterior e posterior) (Leghi et al., 2018).

A revisão sistemática e metanálise de Leghi et al. (2020) consideraram inconclusiva a associação entre o excesso de peso materno e a composição nutricional do leite humano. Nesta revisão, alguns estudos que analisaram o leite maduro observaram associação entre as variáveis supracitadas, enquanto outros não encontraram associação. Na metanálise composta por cinco artigos que analisaram o teor proteico do leite maduro de mães eutróficas, com sobrepeso e obesidade não foram encontradas associações. As autoras concluíram baixa a qualidade dos estudos dificultando a compreensão dessa questão.

O presente estudo verificou que as doadoras de leite com ganho de peso acima do recomendado apresentaram teor proteico no leite humano significativamente inferior em relação às mulheres que ganharam peso adequado. Todavia, Nommsen et al. (1991), em seu estudo longitudinal com 92 mulheres, observaram que o ganho de peso gestacional não foi associado as mudanças na composição nutricional do leite humano. O ganho de peso gestacional está associado a maiores riscos para complicações na gestação, como pré-eclâmpsia, hipertensão gestacional, diabetes gestacional (LifeCycle Study Group, 2019), internação hospitalar mais longa (Baugh et al., 2016), desproporção cefalopélvica (Hung & Hsieh, 2016), persistência de excesso de peso pós-parto para a mãe (Rong et al., 2015), atraso na lactogênese II, dificuldade na amamentação em mulheres obesas (Tao et al., 2017), e desfechos neonatais como a distocia do ombro em partos vaginais, macrossomia, hipoglicemia neonatal, nascimentos prematuros espontâneos e indicados, parto cesáreo em nulíparas e múltiparas (Kominiarek et al., 2018). Os poucos artigos encontrados na literatura não elucidaram o seu impacto sobre a composição nutricional do leite humano.

A idade gestacional, diferente de outros fatores associados a composição nutricional do leite, já foi exaustivamente elucidada pela literatura, visto que os resultados dos artigos observaram que o colostro de mães de prematuros possuem teor superior de proteínas em relação ao de mulheres que tiveram parto a termo (Chung, 2014; Gidrewicz & Fenton, 2014; Dritzakou et al., 2016), e que essa diferença, entre a composição nutricional dos leites de mães de prematuros e de nascidos a termo, reduz no decorrer da lactação (Gidrewicz & Fenton, 2014). Semelhantemente, o presente estudo observou que o teor de proteína no leite humano foi inferior com o aumento da idade gestacional, todavia essa associação não foi significativa.

Apesar de alguns estudos já terem avaliado inúmeros fatores que modificaram a composição nutricional do leite humano, o que se observa é que os resultados ainda são conflitantes e escassos, com exceção da idade gestacional. Além disso, não foi encontrada publicação sobre essa temática com doadoras de BLH. Portanto, este trabalho representou um esforço de contribuir na elucidação de novos fatores associados a composição nutricional, tal como o estado nutricional pré-gestacional e o ganho de peso gestacional. Enfatiza-se que a avaliação do estado nutricional e do ganho de peso gestacional deve ser prioridade nas consultas periconcepcionais e de pré-natal visando ações que auxiliem na promoção da saúde das mulheres e de seus conceptos. Ademais, a elucidação de tais fatores são de extrema importância para o manejo clínico do profissional de BLH, sobretudo os que não detém de equipamentos que avaliem a composição nutricional do leite humano, auxiliando na distribuição do leite de acordo com a necessidade nutricional do recém-nascido internado.

Agradecimentos

Agradecemos ao Banco de Leite Humano da Maternidade Leila Diniz, Banco de Leite Humano do Hospital Carmela Dutra, Banco de Leite Humano Maria Leonor Inocência

Soares, Banco de Leite Humano Gilsara do Bonfim Santos, Maternidade Perinatal de Laranjeiras.

Referências

1. Boccolini CS, Boccolini PMM, Monteiro FR, Venâncio SI, Giugliani ERJ. Tendência de aleitamento materno no Brasil. *Rev Saúde Públ.* 2017;51:108.
2. Fonseca RMS, Milagres LC, Franceschini SCC, Henriques BD. O papel do banco de leite humano na promoção da saúde materno infantil: Uma revisão sistemática. *Ciê Saúde Colet*, Jun 2019.
3. Aprile MM, Feferbaum R. Banco de Leite Humano. 1ª ed. São Paulo: Atheneu; 2011. 184 p.
4. Álvarez de Acosta T, Rodríguez IC, Pineda MR, Valbuena E, Ugueto E, Acosta L. Macronutrientes en la leche madura de madres adolescentes y adultas. *ALAN.* 2013; 63(1):46-52.
5. Costa AGV & Sabarense CM. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. *Rev Nutr.* 2010;23(3):445-457.
6. Massmann PF, França EL, Souza EG, Souza MS, Brune MFSS, Honorio-França AC. Maternal hypertension induces alterations in immunological factors of colostrum and human milk. *Front Life Sci.* 2013;7(3-4):155–163.
7. Dritsakou K, Liosis G, Valsami G, Polychronopoulos E, Skouroliakou M. The impact of maternal and neonatal associated factors on human milk's macronutrients and energy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(11):1302-1308.
8. Thakkar SK, Giuffrida F, Cristina C-H, De Castro CA, Mukherjee R, Tran L-A, et al. Dynamics of human milk nutrient composition of women from Singapore with a special focus on lipids. *Am J Hum Biol.* 2013;25(6):770-779.
9. Organização Mundial da Saúde e UNICEF. Global strategy for infant and young child feeding. Geneva: WHO, 2003.
10. Academia Americana de Pediatria. New American Academy of Pediatrics Recommendations Aim to Ensure Safe Donor Human Milk Available for High Risk Infants Who Need it. [Acesso em 20 abr. 2019]. Disponível em: <http://www.aap.org/en-us/about-the-aap/aap-press-room/Pages/New-American-Academy-of-Pediatrics-Recommendations-Aim-to-Ensure-Safe-Donor-Human-Milk-Available-for-High-Risk-Infants-Who.aspx>.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar. 2ª ed. Brasília, 2015a.
12. Van Goudoever JB. Nutrition for Preterm Infants: 75 Years of History. *Ann Nutr Metab.* 2018;72 Suppl 3(Suppl 3):25-31.
13. Arslanoglu S, Boquien CY, King C, Lamireau D, Tonetto P, Barnett D, et al. Fortification of Human Milk for Preterm Infants: Update and Recommendations of

- the European Milk Bank Association (EMBA) Working Group on Human Milk Fortification. *Front Pediatr.* 2019;7:76.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC Nº 171, de 4 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano. Brasília, 2006.
 15. Brasil. Ministério da Saúde. Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite Humano. Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz. Ordenha: Procedimentos Higiênico-Sanitários. BLH-IFF/NT- 16.11, 2011a.
 16. Brasil. Ministério da Saúde. Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite Humano. Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz. Leite Humano Ordenhado: Determinação da Acidez Titulável – Método Dornic. BLH-IFF/NT- 29.11, 2011b.
 17. Institute of Medicine. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington, D.C: The National Academies Press; 2009.
 18. Organização Mundial da Saúde. Physical status: the use of and interpretation of anthropometry, report of a WHO expert committee. Geneva: WHO, 1995.
 19. Binns C, Lee M, Low WY. The Long-Term Public Health Benefits of Breastfeeding. *Asia Pac J Public Health*, 2016;28(1):7-14.
 20. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO). [Acesso em 22 jan. 2020]. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>.
 21. IBGE. Pesquisa nacional de saúde 2013: ciclos de vida. Brasil e grandes regiões. Rio de Janeiro: IBGE, 2015.
 22. Bachour P, Yafawi R, Jaber F, Choueiri E, Abdel-Razzak Z. Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin A concentrations of human milk. *Breastfeed Med.* 2012;7(3):179-188.
 23. Burianova I, Bronskyc J, Pavlikovad M, Janota J, Malyf J. Maternal body mass index, parity and smoking are associated with human milk macronutrient content after preterm delivery. *Early Hum Dev.* 2019;137:104832.
 24. Hahn WH, Jeong T, Park S, Song S, Kang NM. Content fat and calorie of human milk is affected by interactions between maternal age and body mass index. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(10):1385-1388.
 25. O'Neill EF, Radmacher PG, Sparks B, Adamkin DH. Creamatocrit analysis of human milk overestimates fat and energy content when compared to a human milk analyzer using mid-infrared spectroscopy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;56(5):569-572.

26. Billard H, Simon L, Desnots E, Sochard A, Boscher C, Riaublanc A, et al. Calibration Adjustment of the Mid-infrared Analyzer for an Accurate Determination of the Macronutrient Composition of Human Milk. *J Hum Lact.* 2016;32(3):NP19-NP27.
27. Giuffrida F, Austin S, Cuany D, Sanchez-Bridge B, Longet K, Bertschy E, et al. Comparison of macronutrient content in human milk measured by mid-infrared human milk analyzer and reference methods. *J Perinatol.* 2019;39(3):497-503.
28. Leghi GE, Middleton PF, Muhlhausler BS. A methodological approach to identify the most reliable human milk collection method for compositional analysis: a systematic review protocol. *Syst Rev.* 2018;7(1):122.
29. Leghi GE, Netting MJ, Middleton PF, Wlodek ME, Geddes DT, Muhlhausler ABS. The impact of maternal obesity on human milk macronutrient composition: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2020;12(4):E934.
30. Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, Lönnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(2):457-465.
31. LifeCycle Project-Maternal Obesity and Childhood Outcomes Study Group. Association of Gestational Weight Gain With Adverse Maternal and Infant Outcomes. *JAMA.* 2019;321(17):1702-1715.
32. Baugh N, Harris DE, Aboueissa AM, Sarton C, Lichter E. The Impact of Maternal Obesity and Excessive Gestational Weight Gain on Maternal and Infant Outcomes in Maine: Analysis of Pregnancy Risk Assessment Monitoring System Results from 2000 to 2010. *J Pregnancy.* 2016;1-10.
33. Hung TH, Hsieh TT. Pregestational body mass index, gestational weight gain, and risks for adverse pregnancy outcomes among Taiwanese women: A retrospective cohort study. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2016;55(4):575-581.
34. Rong K, Yu K, Han X, Szeto IM, Qin X, Wang J, Ning Y, Wang P, Ma D. Pre-pregnancy BMI, gestational weight gain and postpartum weight retention: a meta-analysis of observational studies. *Public Health Nutr.* 2015;18(12):2172-2182.
35. Tao XY, Huang K, Yan SQ, Zuo, A. Z., Tao, R. W., Cao, H., Gu, C. L., & Tao, F. B. (2017). Pre-pregnancy BMI, gestational weight gain and breast-feeding: a cohort study in China. *Public Health Nutr.* 2017;20(6):1001-1008.
36. Kominiarek MA, Saade G, Mele L, Bailit J, Reddy UM, Wapner RJ, Varner MW, Thorp JM Jr, Caritis SN, Prasad M, Tita ATN, Sorokin Y, Rouse DJ, Blackwell SC, Tolosa JE; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) Maternal-Fetal Medicine Units (MFMU) Network. Association Between Gestational Weight Gain and Perinatal Outcomes. *Obstet Gynecol.* 2018;132(4):875-881.

37. Chung MY. Factors affecting human milk composition. *Pediatr & Neonat.* 2014;55(6):421-422.
38. Gidrewicz, DA, & Fenton, T R. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatr.* 2014;14:216.

Tabela 1. Composição nutricional do leite maduro de doadoras de Banco de Leite Humano e Posto de Coleta, 2018-2020

	Média	Mediana	Percentil 25-75	DP
Lipídios (g/100ml)	2,7	2,0	2,0-3,5	1,472
Carboidratos (g/100ml)	7,49	8,0	7,0-8,0	1,031
Proteínas (g/100ml)	0,99	1,0	1,0-1,0	0,325
Caloria (Kcal/100ml)	59,18	57,0	49,0-67,0	14,328

Tabela 2. Características sociodemográficas, comportamentais, obstétricas e nutricionais de doadoras de leite humano, 2018-2020

		Média (DP)	n	%
Fatores maternos				
Idade materna (anos)		33,11 ± 5,13	-	-
Escolaridade	Médio incompleto	-	3	1,7
	Médio completo	-	26	14
	Superior incompleto	-	8	4,4
	Superior completo	-	144	80
Cor	Branca	-	116	64
	Parda	-	47	26
	Negra	-	13	7,2
	Amarela	-	5	2,8
Região de moradia	Zona Norte	-	55	30
	Zona Sul	-	52	29
	Zona Oeste	-	51	28
	Baixada fluminense	-	15	8,3
	Outros	-	8	4,4
Situação conjugal	Solteira	-	14	7,7
	Casada	-	123	68
	União estável	-	43	24
	Divorciada	-	1	0,6
Trabalho fora de casa	Não	-	38	21
	Sim	-	142	79
Local de realização do pré-natal	Público	-	27	15
	Particular	-	154	85
Álcool na gestação	Não	-	155	86
	Sim	-	26	14
Fumo na gestação	Não	-	177	98
	Sim	-	4	2,2
Drogas na gestação	Não	-	180	99
	Sim	-	1	0,6

(continua)

(continuação)

Álcool na amamentação	Não	-	160	88
	Sim	-	21	12
Fumo na amamentação	Não	-	180	99
	Sim	-	1	0,6
Hipertensão arterial pré-gestacional	Não	-	178	98
	Sim	-	3	1,7
Hipertensão arterial na gestação	Não	-	168	93
	Sim	-	13	7,2
Diabetes mellitus pré-gestacional	Não	-	181	100
	Sim	-	0	0
Diabetes mellitus na gestação	Não	-	175	97
	Sim	-	6	3,3
Estado nutricional pré-gestacional ¹	Baixo peso	-	10	5,5
	Eutrófico	-	108	60
	Sobrepeso	-	46	25
	Obesidade	-	17	9,4
Ganho de peso gestacional ²	Abaixo	-	55	30
	Adequado	-	59	33
	Acima	-	67	37
Fatores perinatais				
Sexo do recém-nascido	Feminino	-	98	54
	Masculino	-	83	46
Tipo de parto	Normal	-	76	42
	Cesariana	-	102	56
	Fórceps	-	3	1,7
Peso ao nascer (gramas)		3254,76 ± 500,96	-	-
Idade gestacional (semanas)		39,09 ± 1,83	-	-

¹ OMS (2005)² IOM (2009)

Tabela 3. Análise dos fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano, 2018 - 2020

		Lipídios			Carboidratos		Proteínas		Valor calórico	
		n	Mediana (Percentil 25-75)	p valor	Mediana (Percentil 25-75)	p valor	Mediana (Percentil 25-75)	p valor	Mediana (Percentil 25-75)	p valor
Fatores maternos										
Álcool na gestação	Não	155	2,4(1,6-3,4)	0,862	7,7 (7,1-7,9)	0,842	0,8 (0,8-1,0)	0,730	57,0 (50,0-66,0)	0,762
	Sim	26	2,7(1,3-3,6)		7,8 (7,2-7,8)		0,8 (0,8-1,0)		58,5 (48,0-69,0)	
Álcool na amamentação	Não	160	2,5(1,6-3,5)	0,969	7,7 (7,1-7,9)	0,533	0,8 (0,8-1,0)	0,379	57,0 (50,0-66,5)	0,950
	Sim	21	2,6(1,3-3,4)		7,8 (7,3-7,9)		0,8 (0,8-0,9)		59,0 (49,0-67,0)	
Fumo na gestação	Não	177	2,5(1,6-3,4)	0,284	7,7 (7,2-7,9)	0,739	0,8 (0,8-1,0)	0,563	57,0 (50,0-67,0)	0,453
	Sim	4	3,4(2,4-5,4)		7,2 (6,4-8,8)		0,9 (0,8-2,6)		61,0 (54,5-96,0)	
Fumo na amamentação	Não	180	2,5(1,6-3,4)	---	7,7 (7,2-7,9)	---	0,8 (0,8-1,0)	---	57,0 (49,5-66,5)	---
	Sim	1	7,4	---	9,7	---	4,1	---	130,0	---
Hipertensão arterial pré-gestacional	Não	178	2,5(1,6-3,5)	0,998	7,7 (7,2-7,9)	0,475	0,8 (0,8-1,0)	0,722	57,0 (49,0-67,0)	0,907
	Sim	3	2,5 (2,2-2,8)		7,9 (7,0-8,1)		0,8 (0,7-1,0)		59,0 (52,0-64,0)	
Hipertensão arterial na gestação	Não	168	2,5(1,6-3,5)	0,663	7,7 (7,2-7,9)	0,648	0,8 (0,8-1,0)	0,981	57,0 (50,0-67,0)	0,703
	Sim	13	2,5(1,7-3,0)		7,6 (7,2-8,0)		0,8 (0,8-1,0)		59,0 (49,0-65,0)	
Diabetes mellitus pré-gestacional	Não	181	2,5(1,6-3,4)	---	7,7 (7,2-7,9)	---	0,8 (0,8-1,0)	---	57,0 (50,0-67,0)	---
	Sim	0	---	---	---	---	---	---	---	---

(continua)

(continuação)

Diabetes mellitus na gestação	Não	175	2,5(1,6-3,5)	0,622	7,7 (7,1-7,9)	0,802	0,8 (0,8-1,0)	0,779	57,0 (49,0-67,0)	0,692
	Sim	6	3,1(1,7-3,3)		7,7 (7,2-7,9)		0,9 (0,8-0,9)		62,0 (51,0-66,0)	
Estado nutricional pré-gestacional	Baixo peso	10	2,2(1,7-3,3)	0,504	7,7 (7,6-7,8)	0,342	0,9 (0,8-0,9)	0,200	53,5 (52,0-55,0)	0,224
	Eutrófico	108	2,5 (1,5-3,4)		7,8 (7,3-7,9)		0,8 (0,8-1,0)		58,0 (49,5-67,5)	
	Sobrepeso	46	2,8 (1,6-4,2)		7,7 (7,2-7,9)		0,8 (0,8-1,0)		60,0 (51,0-72,0)	
	Obesidade	17	1,9 (1,6-2,8)		7,4 (6,9-7,8)		0,8 (0,7-0,9) §		54,0 (47,0-58,0)	
Ganho de peso gestacional	Abaixo	55	2,6 (1,6-3,6)	0,913	7,8 (7,5-7,9)	0,420	0,9 (0,8-0,9)	0,098	58,0 (51,0-68,0)	0,860
	Adequado	59	2,3 (1,5-3,4)		7,7 (7,3-7,9)		0,9 (0,8-1,0)		57,0 (49,0-68,0)	
	Acima	67	2,7 (1,6-3,4)		7,6 (7,0-7,9)		0,8 (0,7-0,9) †		56,0 (49,0-66,0)	
Fatores perinatais										
Sexo do recém-nascido	Feminino	98	2,5 (1,6-3,4)	0,606	7,7 (7,1-7,9)	0,858	0,8 (0,8-1,0)	0,996	56,5 (49,0-67,0)	0,521
	Masculino	83	2,5 (1,6-3,7)		7,7 (7,2-7,9)		0,8 (0,8-0,9)		58,0 (51,0-68,0)	
Idade gestacional (semanas)	≥ 37	172	2,5 (1,6-3,5)	0,371	7,7 (7,2 -7,9)	0,593	0,8 (0,8-1,0)	0,398	57,0 (49,5- 67,0)	0,396
	34-36,9	8	2,9 (1,9-3,7)		7,6 (7,2-7,7)		1,0 (0,7-1,0)		60,5 (53,5-65,5)	
	< 34	1	1,1		7,4		0,7		44,0	

§ p-valor < 0,05 comparado ao estado nutricional pré-gestacional “Eutrófico”

† p-valor < 0,05 comparado ao ganho de peso gestacional “Adequado”

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve como produtos dois artigos, um relatório breve publicado na revista *Acta Paediatrica* e um artigo que analisou os dados de uma pesquisa realizada com puérperas que teve como objetivo avaliar os possíveis fatores maternos e perinatais que modificam a composição nutricional do leite humano de doadoras de Banco de Leite Humano.

O relatório breve abordou o possível impacto que o sexo do neonato exerce sobre a composição nutricional do leite humano. Foi verificada escassez de estudos sobre essa temática e disparidade dos resultados devido as diferenças metodológicas, principalmente no que diz respeito ao tamanho amostral, métodos de análise do leite humano, fases do leite analisadas, momento de coleta do leite, controle de fatores de confusão e componentes nutricionais avaliados. Entre os cinco artigos que compuseram este relatório, quatro observaram que o teor de energia e/ou lipídio que no leite de mães de meninos foi superior em relação ao leite de mães de meninas.

O segundo artigo analisou os principais fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano doado para Bancos de Leite Humano. Foi observado que o aumento da idade gestacional, a obesidade pré-gestacional e o ganho de peso gestacional reduziram o teor proteico no leite humano. Vale salientar que 34,8% das mulheres iniciaram a gestação com excesso de peso e 67,4% apresentaram inadequação do ganho de peso durante a gestação, sendo que, desse total, 37,0% tiveram ganho ponderal acima do recomendado. Tais dados reforçam a importância da vigilância nutricional para identificação e acompanhamento de mulheres em risco nutricional, visto que o excesso de peso e o ganho de peso acima do recomendado comprometem a saúde da mulher e do recém-nascido, e também são considerados fatores que modificam a composição nutricional do leite humano.

Em relação a idade gestacional, apesar de não ter sido observada associação significativa, os resultados encontrados pelo presente estudo observaram que o teor proteico no leite humano decresce com o aumento da idade gestacional, semelhante aos resultados da literatura.

Outros possíveis fatores (hipertensão arterial e diabetes mellitus, fumo) pontuados por outros artigos por modificarem a composição nutricional no leite não foram observados pelo presente estudo. As diferenças metodológicas entre os manuscritos podem explicar parcialmente as disparidades encontradas.

Diante da importância do leite humano para o recém-nascido, sobretudo o internado, é enfatizada a realização de novos estudos que abarque os principais fatores já apontados utilizando métodos semelhantes para que se obtenha resultados comparáveis que auxiliem no manejo do leite

Espera-se que, com os resultados desse estudo, os principais determinantes associados à composição nutricional do leite humano sejam de fato considerados no manejo clínico dos profissionais de saúde. Ademais, reforçamos a necessidade de cuidado da mulher antes da concepção e na incorporação de cuidados pré-natais o mais precocemente possível a fim de que o estado nutricional seja avaliado nessas consultas.

REFERÊNCIAS

1. Abranches AD, Soares FV, Junior SC, Moreira ME. Freezing and thawing effects on fat, protein, and lactose levels of human natural milk administered by gavage and continuous infusion. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;90(4):384-388.
2. Academia Americana de Pediatria. AAP Committee on nutrition, AAP Section on Breastfeeding, AAP Committee on fetus and newborn. Donor Human Milk for the High-Risk Infant: Preparation, Safety, and Usage Options in the United States. *Pediatrics*. 2017;139(1):e20163440.
3. Alencar LCE, Seidl EMF. Doação de leite humano: experiência de mulheres doadoras. *Rev Saúde Pública*. 2009;43(1):70-77.
4. Alur P. Sex Differences in Nutrition, Growth, and Metabolism in Preterm Infants. *Front Pediatr*. 2019;7:22.
5. Álvarez de Acosta T, Rodríguez IC de, Pineda MR, Valbuena E, Ugueto E, Acosta L. Macronutrientes en la leche madura de madres adolescentes y adultas. *ALAN*. 2013; 63(1):46-52.
6. Amaral YNV. A Influência das Morbidades Maternas nos Constituintes do Leite Humano; Um Estudo de Coorte. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] – Instituto Nacional da Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira; 2017.
7. Andreas NJ, Kmpmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: a review on its composition and biactivity. *Early Hum Dev*. 2015;91(11):629-635.
8. Aprile MM, Feferbaum R. Banco de Leite Humano. 1ª ed. São Paulo: Atheneu; 2011. 184 p.
9. Aumeistere L, Ciproviča I, Zavadská D, Andersons J, Volkovs V, Ceļmalniece K. Impact of Maternal Diet on Human Milk Composition Among Lactating Women in Latvia. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(5):173.
10. Bachour P, Yafawi R, Jaber F, Choueiri E, Abdel-Razzak Z. Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin A concentrations of human milk. *Breastfeed Med*. 2012;7(3):179-188.

11. Baheiraei A, Shamsi A, Khaghani S, Shams S, Chamari M, Boushehri H et al. The effects of maternal passive smoking on maternal milk lipid. *Acta Med Iran.* 2014;52(4):280-285.
12. Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin N Am.* 2013;60(1):49-74.
13. Bauer J, Gerss J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clin Nutr.* 2011;30(2):215-220.
14. Boccolini CS, Boccolini PMM, Monteiro FR, Venâncio SI, Giugliani ERJ. Tendência de aleitamento materno no Brasil. *Rev Saúde Públ.* 2017;51:108.
15. Brasil. Agência Nacional de Saúde Suplementar. Manual de diretrizes para o enfrentamento da obesidade na saúde suplementar brasileira. Rio de Janeiro; 2017c.
16. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. Brasília: Anvisa; 2008.
17. Brasil. Ministério da Educação. Manual de Normas e Rotinas de Aleitamento Materno do HU-UFGD/EBSERH. Mato Grosso do Sul: Ministério da Educação; 2017b.
18. Brasil. Ministério da Saúde. Ações, programas e iniciativas. Iniciativa Hospital Amigo da Criança. [Acesso em 8 mar. 2019]. Disponível em: <http://portalmms.saude.gov.br/saude-de-a-z/crianca>.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite Humano. Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz. Leite Humano Ordenhado: Determinação da Acidez Titulável – Método Dornic. BLH-IFF/NT- 29.11; 2011a.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite Humano. Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz. Ordenha: Procedimentos Higiênicos Sanitários. BLH-IFF/NT- 16.11; 2011b.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Guia para implantação de salas de apoio à amamentação para a mulher trabalhadora. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2015b.

22. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição-INAN. Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno-PNIAM. Normas Gerais para Bancos de Leite Humano. Ministério da Saúde. 1993.
23. Brasil. Ministério da Saúde. Política Nacional de Alimentação e Nutrição. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
24. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 1.016, de 26 de agosto de 1993. Normas Básicas de Alojamento Conjunto. Brasília, 1993.
25. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.799, de 18 de novembro de 2008. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS -, a Rede Amamenta Brasil. Brasília, 2008. [Acesso em 8 mar. 2019]. Disponível em: <http://www.ibfan.org.br/legislacao/pdf/doc-361.pdf>.
26. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 1.920, de 5 de setembro de 2013. Institui a Estratégia Nacional para Promoção do Aleitamento Materno e Alimentação Complementar Saudável no Sistema Único de Saúde - Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil. Brasília, 2013.
27. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 111, de 19 de janeiro de 2012. Redefine o Comitê Nacional de Aleitamento Materno. Brasília, 2012.
28. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.799, de 18 de novembro de 2008. Institui a Rede Amamenta Brasil (Revogada para PRT GM/MS Nº 1920, de 5 setembro de 2013).
29. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 322, de 26 de maio de 1988. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição-INAN. Secretaria de Programas Especiais-SPE. Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno-PNIAM. Normas Gerais para Bancos de Leite Humano, 1993.
30. Brasil. Ministério da Saúde. 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 5 set 2006; Seção 1.
31. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria da Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. Amamentação e uso de medicamentos e outras substâncias, Secretaria da Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.

32. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Criança: orientações para implementação. Brasília: Ministério da Saúde; 2018.
33. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. A legislação e o marketing de produtos que interferem na amamentação: um guia para o profissional de saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
34. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2015a.
35. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Bases para a discussão da Política Nacional de Promoção, Proteção e Apoio ao Aleitamento Materno. Brasília: Ministério da Saúde; 2017a.
36. Brasil. Presidência da República. Lei Nº 13.435, de 12 de abril de 2017. Institui o mês de agosto como o Mês do Aleitamento Materno. Brasília, 2017d.
37. Burianova I, Bronskyc J, Pavlikovad M, Janota J, Malyf J. Maternal body mass index, parity and smoking are associated with human milk macronutrient content after preterm delivery. *Early Hum Dev.* 2019;137:104832.
38. Bzikowska-Jura A, Czerwonogrodzka-Senczyna A, Oledzka G, Szostak-Wegierek D, Weker H, Wesolowska A. Maternal nutrition and body composition during Breastfeeding: Association with human milk composition. *Nutrients.* 2018;27(10):1379.
39. Chien Y-C, Liu J-F, Huang Y-J, Hsu C-S, Chao JC-J. Alcohol levels in Chinese lactating mothers after consumption of alcoholic diet during postpartum “doing-the-month” ritual. 2005;37(3):143-150.
40. Correia LL, Silveira DMI, Cavalcante e Silva A, Campos JS, Machado MMT, Rocha HAL, et al. Prevalência e determinantes de obesidade e sobrepeso em mulheres em idade reprodutiva residentes na região semiárida do Brasil. *Ciênc Saúde Colet.* 2011;16(1):133-145.
41. Costa AGV, Sabarense CM. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. *Rev Nutr.* 2010;23(3):445-457.

42. Cutland CL, Lackritz EM, Mallett-Moore T, Bardají A, Chandrasekaran R, Lahariya C, et al. Low birth weight: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of maternal immunization safety data. *Vaccine*. 2017;35(48 Pt A):6492-6500.
43. Dessì A, Briana D, Corbu S, Gavrieli S, Cesare Marincola F, Georgantzi S, et al. Metabolomics of Breast Milk: The Importance of Phenotypes. *Metabolites*. 2018;8(4):79.
44. Dias PC, Henriques P, Anjos AA, Burlandy L. Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro. *Cad. Saúde Públ*. 2017;33(7):e00006016.
45. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. Oliveira JEP, Montenegro Junior RM, Vencio S, organizadores. São Paulo: Clannad; 2017.
46. Dizdar EA, Sari FN, Degirmencioglu H, Canpolat FE, Oguz SS, Uras N, et al. Effect of mode of delivery on macronutrient content of breast milk. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014;27(11):1099-1102.
47. Domany KA, Mandel D, Kedem MH, Lubetzky R. Breast milk fat content of mothers to small-for-gestational-age infants. *J Perinatol*. 2015;35(6):444-446.
48. Dritsakou K, Liosis G, Valsami G, Polychronopoulos E, Skouroliakou M. The impact of maternal and neonatal associated factors on human milk's macronutrients and energy. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30(11):1302-1308.
49. Elwakiel M, Hageman JA, Wang W, Szeto IM, Van Goudoever JB, Hettinga KA, et al. Human milk oligosaccharides in colostrum and mature milk of Chinese mothers: Lewis positive secretor subgroups. *J Agric Food Chem*. 2018;66(27):7036-7043.
50. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). Pré-eclâmpsia nos seus diversos aspectos. Série Orientações e Recomendações Nº 8. São Paulo; 2017.
51. Feres F, Costa RA, Siqueira D, Costa Jr JR, Chamié D, Staico R, et al. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia e da Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista sobre Intervenção Coronária Percutânea. *Arq Bras Cardiol*. 2017;109(1 Supl 1):1-81.

52. Figueiró MB. Aleitamento materno: fatores que levam ao desmame precoce. Universidade Federal de Minas Gerais. Pós graduação em Atenção Básica da Família. Teófilo Otoni/MG, 2010.
53. Fischer Fumeaux CJ, Garcia-Rodenas CL, De Castro CA, Courtet-Compondu MC, Thakkar SK, Beauport L, et al. Longitudinal Analysis of Macronutrient Composition in Preterm and Term Human Milk: A Prospective Cohort Study. *Nutrients*. 2019;11(7):1525.
54. Freire CMV, Tedoldi CL. Hipertensão arterial na gestação. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(6):159-165.
55. Freitas, EZ. Rede de bancos de leite humano: uma trajetória de origem brasileira. Brasília. Monografia [Especialização em Relações Internacionais] - Universidade de Brasília; 2014.
56. Fujita M, Roth E, Lo Y-J, Hurst C, Vollner, Kendell A. In poor families, mothers' milk is richer for daughters than sons: A test of Trivers-Willard hypothesis in agropastoral settlements in Northern Kenya. *Am J Phys Anthropol*. 2012;149(1):52-59.
57. Fundo das Nações Unidas para a Infância e Organização Mundial da Saúde. Low Birthweight: Country, regional and global estimates. New York: UNICEF, 2004.
58. Gallier S, Vocking K, Post JA, Van de Heijning B, Acton D, Van Der Beek E, et al. A novel infant milk formula concept: Mimicking the human milk fat globule structure. *Colloid Surface B Biointerfaces*. 2015;136:329-339.
59. García-Lara NR, Escuder-Vieco D, García-Algar O, De la Cruz J, Lora D, Pallás-Alonso C. Effect of freezing time on macronutrients and energy content of breastmilk. *Breastfeed Med*. 2012;7(4):295-301.
60. Goonatileke E, Huang J, Xu G, Wu L, Smilowitz JT, German JB, et al. Human Milk Proteins and Their Glycosylation Exhibit Quantitative Dynamic Variations during Lactation. *J Nutr*, 2019;149(8):1317-1325.
61. Grapov D, Lemay DG, Weber D, Phinney BS, Azulay Chertok I R, Gho DS, et al. The human colostrum whey proteome is altered in Gestational Diabetes Mellitus. *J Proteome Res*. 2015;14(1):512-520.
62. Grazziotin MCB. Efeito dos diferentes modos e tempos de estocagem sobre a acidez e o valor calórico do leite humano ordenhado cru de mães com recém-nascidos internados

numa unidade de neonatologia. Dissertação [Mestrado] – Universidade Federal do Paraná, Saúde da Criança e do Adolescente. Curitiba; 2014.

63. Gridneva Z, Kuganathan S, Hepworth AR, Tie WJ, Lai CT, Ward LC, et al. Effect of Human Milk Appetite Hormones, Macronutrients, and Infant Characteristics on Gastric Emptying and Breastfeeding Patterns of Term Fully Breastfed Infants. *Nutrients*. 2016;9(1):15.

64. Grote V, Verduci E, Scaglioni S, Vecchi F, Contarini G, Giovannini M, et al. Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life. *Eur J Clin Nutr*. 2016;70(2):250-256.

65. Hahn W-H, Song J-H, Lee J E, Kang N. Do gender and birth height of infant affect calorie of human milk? An association study between human milk macronutrient and various birth factors. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30(13):1608-1612.

66. Hahn W-H, Jeong T, Park S, Song S, Kang NM. Content fat and calorie of human milk is affected by interactions between maternal age and body mass index. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(10):1385-1388.

67. Hausman KM, Mandel D, Domani KA, Mimouni FB, Shay V, Marom R, et al. The Effect of Advanced Maternal Age upon Human Milk Fat Content. *Breastfeed Med*. 2013;8(1):116-119.

68. He B-Z, Sun X-J, Quan M-Y, Wang D-H. [Macronutrients and energy in milk from mothers of premature infants]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2014;16(7):679-683. Chinês.

69. IBFAN. Ibfan Brasil. Declaração de Innocenti. [Acesso em 8 mar. 2019]. Disponível em: <http://www.ibfan.org.br/site/tag/declaracao-de-innocenti>.

70. IBFAN. Ibfan Brasil. Legislação. [Acesso em 8 mar. 2019]. Disponível em: <http://www.ibfan.org.br/site/documentos/legislacao>.

71. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão; 2010.

72. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Coordenação de Trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.
73. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde 2013: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas: Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. [Acesso em 05 mar. 2019]. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf>.
74. Institute of Medicine. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington, D.C: The National Academies Press, 2009.
75. Kim S-M, Kim S-J, Kim J-Y, Kim J-R, Cho K-H. Breast milk from smokers contains less cholesterol and protein and smaller size of polipoprotein A-I resulting in lower zebrafish embryo survivability. *Breastfeed Med.* 2017;12(6): 365-372.
76. Kolasa KM, Firnhaber G, Haven K. Diet for a Healthy Lactating Woman. *Clin Obstet Gynecol.* 2015;58(4):893-901.
77. Koletzko B. Human milk lipids. *Ann Nutr Metab.* 2016;69(2):28-40.
78. Léké A, Grognet S, Deforceville M, Goudjil S, Chazal C, Kongolo G, et al. Macronutrient composition in human milk from mothers of preterm and term neonates is highly variable during the lactation period. *Clin Nutr Exp.* 2019;26:59-72.
79. Lobo LAC, Canuto R, Dias-da-Costa JS, Pattussi MP. Tendência temporal da prevalência de hipertensão arterial sistêmica no Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2017;33(6):e00035316.
80. Lonnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destailats F. Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective. *J Nutr Biochem.* 2017;41:1-11.
81. Lubetzky R, Sever O, Mimouni FB, Mandel D. Human Milk Macronutrients Content; Effect of Advanced Maternal Age. *Breastfeed Med.* 2015;10(9):433-436.
82. Maia PR da S, Almeida JAG de, Novak FR, Silva DA da. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano: gênese e evolução. *Rev Bras Saude Mater Infant.* 2006;6(3):285-292.

83. Mangel L, Mimouni F., Feinstein-Goren N, Lubetzky R, Mandel D, Marom R et al. The effect of maternal habitus on macronutrient content of human milk colostrum. *J Perinatol.* 2017;37(7):818-821.
84. Martin CR, Ling PR, Blackburn GL. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients.* 2016;8(5):279.
85. Massmann PF, França EL, Souza EG, Souza MS, Brune MFSS, Honorio-França AC. Maternal hypertension induces alterations in immunological factors of colostrum and human milk. *Front Life Sci.* 2013;7(3-4):155-163.
86. Mennella JA. Short-term effects of maternal alcohol consumption on lactational performance. 1998;22(7):1389-1392.
87. Morceli G, Franç EL, Magalhães VB, Damasceno DC, Calderon IMP, Honorio-França AC. Diabetes induced immunological and biochemical changes in human colostrum. *Acta Paediatr.* 2011;100(4):550-556.
88. Morosini, L. Comunicação, história e vida um mergulho na Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado] – Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde; 2014.
89. Müller FS, Rea MF, Monteiro NR. Iniciativa Mundial sobre Tendências do Aleitamento Materno (WBTi): Informe Nacional. São Paulo: IBFAN Brasil, 2014.
90. Napierala M, Mazela J, Merritt TA, Florek E. Tobacco smoking and Breastfeeding: Effect on the lactation process, breast milk composition and infant development. A critical review. *Environ Res.* 2016;151:321-338.
91. Napierala M, Merritt TA, Mieczowicz I, Mielnik K, Mazela J, Florek E. The effect maternal tobacco smoking and second-hand tobacco smoke exposure on human milk oxidant-antioxidant status. *Environ Res.* 2019;170:110-121.
92. Neubauer SH, Ferris AM, Chase CG, Fanelli J, Thompson CA, Lammi-Keefe CJ, Clark RM, Jensen RG, Bendel RB, Green KW. Delayed lactogenesis in women with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 1993;58(1):54-56.
93. Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, Lönnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(2):457-465.

94. Oliveira DS de, Boccolini CS, Faersteina E, Verly-Jr E. Breastfeeding duration and associated factors between 1960 and 2000. *J Pediatr (Rio J)*. 2017;93(2):130-135.
95. OMS. Born Too Soon: The Global action report on preterm Birth. Geneva: WHO, 2012.
96. OMS. Evidence for the ten steps to successful Breastfeeding. Geneva: WHO, 1989.
97. OMS. Physical status: the use of and interpretation of anthropometry, report of a WHO expert committee. Geneva: WHO, 1995.
98. OMS. Ten steps to successful breastfeeding. [Acesso em 8 mar. 2019]. Disponível em: <https://www.who.int/activities/promoting-baby-friendly-hospitals/ten-steps-to-successful-breastfeeding>.
99. OMS. The optimal duration of exclusive breastfeeding: report of the expert consultation. Geneva: WHO, 2001.
100. OMS. WHO: recommended definitions, terminology and format for statistical tables related to the perinatal period and use of a new certificate for cause of perinatal deaths. Modifications recommended by FIGO as amended October 14, 1976. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1977;56(3):247-253.
101. OPAS/OMS Brasil. Folha informativa – Álcool. [Acesso em 23 fev. 2019]. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5649:folha-informativa-alcool&Itemid=1093.
102. Pereira CI, Dametto JF, Oliveira JC. Evaluation of human milk titratable acidity before and after addition of a nutritional supplement for preterm newborns. *J Pediatr (Rio J)*. 2016;92:499-504.
103. Phattraprayoon N, Kraisonsin N, Kanjanapattanakul W. Comparison of Breast Milk Compositions Among Mothers Delivering Small-for-Gestational Age, Appropriate-for-Gestational Age, and Large-for-Gestational Age Infants. *Breastfeed Med*. 2018;3(9):627-630.

104. Powe CE, Knott CD, Conklin-Britain N. Infant sex predicts breast milk energy content. *Am J Hum Biol.* 2010;22(1):50-54.
105. Prentice P, Ong KK, Schoemaker MH, Van Tol EAF, Vervoort J, Hughes IA, et al. Breast milk nutrient content and infancy growth. *Acta Paediatr.* 2016;105(6):641-647.
106. Preusting I, Brumley J, Odibo L, Spatz DL, Louis JM. Obesity as a predictor of delayed lactogenesis II. *J Hum Lact.* 2017;33(4):684-691.
107. Quinn EA. No evidence for sex biases in milk macronutrients, energy, or breastfeeding frequency in a sample of Filipino mothers. *Am J Phys Anthropol.* 2013;152(2):209-216.
108. Quinn JA, Munoz FM, Gonik B, Frau L, Cutland C, Mallett-Moore T, et al. Preterm birth: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunisation safety data. *Vaccine.* 2016;34(49):6047-6056.
109. Raupp, RM. O lugar da comunicação no processo de construção da autossuficiência em leite humano no Distrito Federal. Tese [Doutorado] - Fundação Oswaldo Cruz, ICICT. Rio de Janeiro; 2016.
110. Rede BLH. Rede Global de Bancos de Leite Humano [Acesso em 8 mar. 2019]. Disponível em: <https://rblh.fiocruz.br/quem-somos>.
111. Rimes KA, Oliveira MCO, Boccolini CS. Licença-maternidade e amamentação exclusiva. *Rev Saúde Pública.* 2019;53:10.
112. Rocha BO, Machado MP, Bastos LL, Silva LB, Santos AP, Santos LC, et al. Risk Factors for Delayed Onset of Lactogenesis II Among Primiparous Mothers from a Brazilian Baby-Friendly Hospital. *J Hum Lact.* 2020;36(1):146-156.
113. Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Acta Paediatr.* 2005;94(9):1176-1181.
114. Santiago LTC, Meira Júnior JD, Freitas NA de, Kurokawa CS, Rugolo LMSS. Colostrum fat and energy content: effect of gestational age and fetal growth. *Rev Paul Pediatr.* 2018; 36(3):286-291.

115. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Linha de cuidado gestante e puérpera: manual técnico do pré-natal, parto e puerpério. São Paulo: SES/SP, 2018.
116. Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial (Senac). Promoção da Amamentação e alimentação complementar. Projeto de Inclusão Social e Desenvolvimento Comunitário. Manual - Capacitação de Multiplicadores, 3ª ed, 2007.
117. Sistema de Gerenciamento de Bancos de Leite Humano BLHWeb. [Acesso em 25 fev 2020]. Disponível em: <http://blh.iff.fiocruz.br/system/adm/relatorios/consultaTotalAtivas.php?doadoras=1>.
118. Sociedade Brasileira de Pediatria. Prevenção da prematuridade – uma intervenção da gestão e da assistência. Departamento Científico de Neonatologia, 2017. [Acesso em 30 nov. 2019]. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/20399b-DocCient_-_Prevencao_da_prematuridade.pdf.
119. Sparks BB, Radmacher PG, Lewis S L, Serke LA, Adamkin DH. Human Milk Analysis Contributes to Nutritional Management of Very Low Birth Weight Infants. ICAN. 2014;6(5):295-300.
120. Stoltz Sjöström E, Öhlund I, Tornevi A, Domellöf M. Intake and Macronutrient Content of Human Milk Given to Extremely Preterm Infants. J Hum Lact. 2014;30(4): 442-449.
121. Tao X-Y, Huang K, Yan S-Q, Zuo A-Z, Tao R-W, Cao H, et al. Pre-pregnancy BMI, gestational weight gain and breast-feeding: a cohort study in China. Public Health Nutr. 2017;20(6):1001-1008.
122. OMS. Implementation guidance: protecting, promoting and supporting breastfeeding in facilities providing maternity and newborn services – the revised Baby-friendly Hospital Initiative. Geneva: 2018
123. Thakkar SK, Giuffrida F, Cristina C-H, De Castro CA, Mukherjee R, Tran L-A, et al. Dynamics of human milk nutrient composition of women from Singapore with a special focus on lipids. Am J Hum Biol. 2013;25(6):770-779.
124. Tie WJ, Gardner H, Lai CT, Hepworth AR, Al-Tamimi Y, Paech MJ, et al. Changes in milk composition associated with pethidine-PCEA usage after caesarean section. Matern Child Nutr. 2017;13(2):e12275.

125. Valentine CJ, Morrow G, Fernandez S. Docosaehaenoic acid and amino acid contents in pasteurized donor milk are low for preterm infants. *J Pediatr*. 2010;157(6):906-910.
126. Van Beusekom CM, Zeegers TA, Martini IA, Velvis HJ, Visser GH, Van Doormal JJ et al. Milk of patients with tightly controlled insulin-dependent diabetes mellitus has normal macronutrient and fatty acid composition. *Am J Clin Nutr*. 1993;57(6):938-943.
127. Van Sadelhoff JHJ, Mastorakou D, Weenen H, Stahl B, Garsen J, Hartog A. Short Communication: Differences in Levels of Free Amino Acids and Total Protein in Human Foremilk and Hindmilk. *Nutrients*. 2018;10(12):1828.
128. Venancio SI, Escuder MM, Saldiva SRDM, Giugliani ER. A prática do aleitamento materno nas capitais brasileiras e Distrito Federal: situação atual e avanços. *J Pediatr (Rio J)*, 2010;86(4):317-324.
129. Venancio SI, Saldiva SRDM, Monteiro CA. Tendência secular da amamentação no Brasil. *Rev Saúde Pública*. 2013;47(6):1205-1208.
130. Venancio SI, Toma TS. Promoção, proteção e apoio ao aleitamento materno: evidências científicas e experiências de implementação. São Paulo: Instituto de Saúde, 2019:272p.
131. Vieira AA, Soares FV, Pimenta HP, Abranches AD, Moreira ME. Analysis of the influence of pasteurization, freezing/thawing and offer process on human milk's macronutrient concentrations. *Early Hum Dev*. 2011;87(8):577-580.
132. Wei W, Jin Q, Wang X. Human milk fat substitutes: Past achievements and current trends. *Prog Lipid Res*. 2019;74:69-86.
133. Witkowska-Zimny M & Kaminska-El-Hassan E. Cells of human milk. *Cell Mol Biol Lett*. 2017;22:11.
134. Zazara DE, Arck PC. Developmental origin and sex-specific risk for infections and immune diseases later in life. *Semin Immunopathol*. 2019;41(2):137-151.

135. Zhang G, Feenstra B, Bacelis J, Liu X, Muglia LM, Juodakis J, et al. Genetic Associations with Gestational Duration and Spontaneous Preterm Birth. *N Engl J Med.* 2017;21;377(12):1156-1167.

APÊNDICES E ANEXOS



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: **"Fatores perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras atendidas em um Banco de Leite Humano"**.

Pesquisadores responsáveis: Dr^a. Maria Elisabeth Lopes Moreira, Dr^a. Daniele Marano Rocha, Dr^a. Daniele Aparecida da Silva, Raquel Ximenes Melo, Ms Yasmin Notarbartolo di Villarosa do Amaral.

Instituição responsável pela pesquisa: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz). Endereço: Avenida Rui Barbosa, 716, Flamengo, Rio de Janeiro - RJ, CEP: 22250-020, Unidade de Pesquisa Clínica. Contato: (21) 2554-1915.

Nome _____ Prontuário _____

Você está convidada a participar do projeto de pesquisa intitulado **"Fatores perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras atendidas em um Banco de Leite Humano"**, pois você é uma doadora de leite humano cadastrada no Banco de Leite Humano/IFF.

Este estudo visa um melhor conhecimento sobre a quantidade de gordura, proteína e carboidrato do leite materno das doadoras desse Banco de Leite e a relação do conteúdo nutricional com questões da saúde das mulheres participantes.

Além disso, contribuirá para o desenvolvimento de novas técnicas e rotinas que buscam a melhoria do diretrizes e protocolos para melhor atendimento das pacientes.

APROVADO VALIDADO
 INICIO 20/02/19 FIM 20/02/19
 Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - FIOCRUZ
 Telefone: 2554-1730 / Telefax: 2552-8481
 E-mail: cepp@iff.fiocruz.br

[Assinatura]
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - FIOCRUZ

T.C.L.E. sendo l

 Rubrica Participante

 Rubrica Pesquisador

A realização do estudo se dará através da doação de uma amostra de leite humano que será coletada na sua própria casa. Além disso será aplicado um questionário padronizado, via contato telefônico realizado pela bióloga Raquel Ximenes Melo do BLH/IFF.

O leite humano será analisado em um aparelho que mede a quantidade de carboidrato, proteína e gordura presente no seu leite. Estes resultados estarão disponíveis para você, e se caso identificarmos alterações importantes, entraremos em contato para auxiliar no que for necessário.

Os possíveis riscos do estudo são relacionados à coleta do leite das nutrizes que poderá gerar dor e desconforto. Para evitar e/ou reduzir este desconforto ou dor você será orientada pela equipe capacitada do Banco de Leite Humano. No caso da análise dos questionários, o possível risco é de confidencialidade. Para assegurar isso, os mesmos serão codificados e não constarão o nome ou qualquer informação que possa identificar a doadora.

Os dados desta pesquisa serão de extrema importância para atuação dos profissionais dessa Instituição no atendimento das nutrizes e dos recém-nascidos que recebem leite humano de doadoras.

As amostras de leite humano e o questionário do estudo serão coletados e aplicados uma única vez.

A sua participação nesta pesquisa é voluntária e você poderá abandonar ou se retirar do estudo a qualquer momento, sem que isto cause qualquer prejuízo no acompanhamento nesta Instituição. O investigador deste estudo também poderá retirá-lo do estudo a qualquer momento, se ele julgar que seja necessário para o seu bem estar.

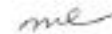
Garantimos também a confidencialidade dos seus dados. Nenhum dado será publicado contendo informações que possibilitem sua identificação.

Você receberá uma via idêntica deste documento assinada pelo pesquisador do estudo.

Sua participação no estudo não implicará em custos adicionais, e você não terá qualquer despesa com a realização dos procedimentos previstos neste estudo. Também não haverá nenhuma forma de pagamento para sua participação. Se houver danos decorrentes da pesquisa é garantido o direito a indenização.

Os pesquisadores se comprometem a cumprir com rigor as normas para pesquisas com seres humanos explicitadas na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Você poderá esclarecer dúvidas com as pesquisadoras do estudo e, sempre que desejar, poderá entrar em contato com as coordenadoras da pesquisa, Dr^a. Maria Elisabeth Lopes Moreira, Dr^a. Daniele Marano Rocha e Dr^a.


 IMPEDIDO APROVADO VALIDADE
 Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA- IFF/FIOCRUZ
 Telefones: 2554-1700 / Tel/Fax: 2552-0401
 E-mail: comite@iff.fiocruz.br


 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA- IFF/FIOCRUZ

Daniele Aparecida da Silva, que serão encontradas no endereço: Avenida Rui Barbosa, 716, Flamengo, Rio de Janeiro - RJ, CEP 22250-020, telefone (21) 2554-1915.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Fernandes Figueira, se encontra a disposição para eventuais esclarecimentos éticos e outras providências que se façam necessárias (e-mail: cepiff@iff.fiocruz.br; Telefones: 2554-1730/fax: 2552-8491).

Eu, _____

autorizo voluntariamente minha participação nesta pesquisa.

Declaro que li e entendi todo o conteúdo deste documento.

Assinatura: _____

Data: _____ Telefone: _____

Testemunha Nome: _____

Documento: _____

Endereço/telefone: _____

Assinatura: _____

Data: _____

Investigador que obteve o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome: _____

Assinatura: _____




 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos:
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ

APÊNDICE 2

ENTREVISTA

QUESTIONÁRIO _ _ _

Instruções para preenchimento:

Para todo o questionário, preencher com '88' para 'não se aplica' e '99' para 'não sabe informar' ou 'não se lembra'.

Meu nome é _____, trabalho no BLH do IFF e gostaria de convidá-la a participar da pesquisa sobre "Fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras de Banco de Leite Humano". O objetivo é avaliar o perfil das doadoras e a composição do leite humano doado para o BLH/IFF. Sua participação é muito importante para auxiliar na melhora das nossas práticas e no atendimento as crianças. Todos os dados informados serão confidenciais.

I-IDENTIFICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO

1-Nº do prontuário da mãe _____	
2-Entrevistador _ _ _	3-Data da entrevista _ _ / _ _ / _ _ _ _
4-Digitador _ _ _	5-Data da digitação _ _ / _ _ / _ _ _ _

II-IDENTIFICAÇÃO DA DOADORA

6-Qual seu nome completo?	
7-Quantos anos você tem?	_____ anos
8-Data de nascimento	____ / ____ / ____

III-DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

9-Qual é a região que você mora? 1-zona norte 2-zona sul 3-zona oeste 4-baixada fluminense 5-outros _____	<input type="checkbox"/>
10-O local onde você mora é? 1-bairro 2-comunidade (favela) 3-loteamento (favela-bairro) 4-outro _____	<input type="checkbox"/>
11-Qual é o seu telefone? _____ _____	
12-Sobre sua situação conjugal, você é... 1-solteira 2-casada 3-união estável 4-Divorciada/Separada 5-Viúva	<input type="checkbox"/>
13-Qual é a sua cor: 1-branca 2-parda (morena/mulata) 3-negra 4-amarela 5-indígena	<input type="checkbox"/>
14-Sobre seus estudos, qual foi a última série que você completou? (Se não estudou colocar 0 e 0) 1-fundamental 2-médio 3-superior 4-completo 5-incompleto ____ série ____ grau	<input type="checkbox"/>
15-Você trabalha? 0-não 1-sim	<input type="checkbox"/>
16-Qual é sua renda mensal? (Salário, benefícios, pensão, etc)	____.____.____
17-Qual é a renda mensal da família (todos os membros da residência)?	____.____.____

IV- IDADE GESTACIONAL E PRÉ-NATAL

18-Você fez ultrassonografia após saber que estava grávida? 0-não 1-sim	<input type="checkbox"/>
19-Realizou pré-natal? 0-não 1-sim	<input type="checkbox"/>
20-Com quantas semanas você iniciou o pré-natal?	<input type="checkbox"/>

21- Quantas consultas de pré-natal realizou durante a gestação?	__ __
22- Onde fez o pré-natal? 1-público 2-médico convênio/particular	__
23-Durante o pré-natal você recebeu orientação sobre aleitamento materno? 0-não 1-sim	__
24-Você teve consulta com o profissional nutricionista? 0-não (VÁ PARA 26) 1-sim	__
25-Quantas consultas você teve com nutricionista?	__
26-Você tomou algum suplemento alimentar? 0-não 1-sim	__

V- HÁBITOS COMPORTAMENTAIS

27- Durante a gestação você ingeriu bebidas alcoólicas? 0-não (VÁ PARA 34) 1-sim	__
28-Quantas doses você ingeriu?	__
29-Qual era a frequência? 1-diária 2-semanal 3-mensal	__
30- Durante a gravidez você sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida alcoólica ou parar de beber? 0-não 1-sim	__
31- As pessoas a aborrecem porque criticam seu modo de tomar bebida alcoólica? 0-não 1-sim	__
32- Você se sente chateada consigo mesma pela maneira como costuma tomar bebidas alcoólicas? 0-não 1-sim	__
33- Costuma tomar bebidas alcoólicas pela manhã para diminuir nervosismo ou ressaca? 0-não 1-sim	__
34- Você ingere bebidas alcoólicas atualmente? 0-não 1-sim	__
35- Você fumou durante a gravidez? 0-não (VÁ PARA 37) 1-sim	__
36- Quantos cigarros você fumava por dia na gravidez? (1maço=20 cigarros)	__ __
37- Você fuma atualmente? 0-não (VÁ PARA 39) 1-sim	__
38- Quantos cigarros você fuma por dia? (1 maço=20 cigarros)	__
39- Você usou algum tipo de droga na gravidez? 0-não 1-sim	__

VI-DOENÇAS MATERNAS E USO DE REMÉDIOS

40- Você tem hipertensão sem estar grávida? 0-não (VÁ PARA 42) 1-sim	__
41- Você está usando algum remédio para hipertensão no momento? 0-não 1-sim (VÁ PARA 43)	__
42- Nessa última gravidez você teve hipertensão? 0-não 1-sim	__
43- Você tem diabetes quando não está grávida? 0-não (VÁ PARA 45) 1-sim	__
44- Você usa algum remédio para diabetes no momento? 0-não 1-sim (VÁ PARA 46)	__
45-Nessa última gestação você teve diabetes? 0-não 1-sim	__

VII-INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS

46-Qual era o seu peso antes de ficar grávida (até a 13ª semana gestacional)?	__ __ __, __ __ Kg
47-Qual é sua altura?	__, __ __ m
Qual IMC pré-gestacional (NÃO PERGUNTAR PARA A MULHER)	IMC __
0-baixo peso (<18,5) 1-eutrófico (≥18,5-<25) 2-sobrepeso (≥25-<30) 3-obesidade (≥30)	__
48- Qual foi o seu peso na última consulta do pré-natal?	__ __ __, __ __ Kg
49- Qual é seu peso atual?	__ __ __, __ __ Kg
Qual IMC atual (NÃO PERGUNTAR PARA A MULHER)	IMC __
0-baixo peso (<18,5) 1-eutrófico (≥18,5-<25) 2-sobrepeso (≥25-<30) 3-obesidade (≥30)	__

50-Fez bariátrica? 0-não 1-sim	<input type="checkbox"/>
---------------------------------------	--------------------------

X- INFORMAÇÕES DO RECÉM-NASCIDO, PARTO E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL
(CASO SEJA GEMELAR UTILIZAR OUTRO QUESTIONARIO PARA REALIZAR A AVALIAÇÃO E ANEXAR TODOS JUNTOS)

51-Data de nascimento do recém-nascido?	__/__/____
52- Qual é o sexo do bebê? 1-feminino 2-masculino	<input type="checkbox"/>
53- Qual foi o tipo de parto? 1-normal(VÁ PARA 55) 2-cesariana 3-fórceps(VÁ PARA 55)	<input type="checkbox"/>
54- Foi planejada a cesariana? 0-não 1-sim	<input type="checkbox"/>
55- Qual motivo da cesariana? 1-Hipertensão 2-Diabetes 3-Escolha pessoal 4-Outro motivo _____	<input type="checkbox"/>
56- Qual é a idade gestacional no nascimento (USG)	____, __
57- Qual foi o peso ao nascer do bebê?	______g
58- Qual foi o comprimento do bebê ao nascer?	____, __ cm

ANEXO 1



CADASTRO DE DOADORAS DO BANCO DE LEITE HUMANO

Dados Cadastrais

Apresentou documento com foto () Sim () Não Matrícula: _____ Prontuário: _____

Nome da doadora: _____

Nome mãe da Doadora: _____

e-mail doadora: _____ CPF: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Naturalidade: _____

Endereço completo: _____

Bairro: _____ Município: _____ Estado: _____

CEP: _____ Profissão: _____

Fone 01: _____ Fone 02: _____ Fone 03: _____

Ponto de Referência: _____

Amamentando o bebê? () Sim () Não Porque? _____

Tipo de doação () Domiciliar () Eventual () Exclusiva – Nome do Receptor: _____

Responsável pela informação: _____ Data do cadastro ____/____/____

História Progressa

Realizou Pré Natal? () Sim () Não

Local () Rede Pública – Instituição _____ Fone: _____

() Rede Privada – Médico _____ Fone: _____

Peso na gestação		Altura	Idade Gestacional		Data do Parto	Peso RN ao nascer	Peso atual do RN
Inicial	Final		Semanas	Dias			

Exames Realizados						
VDRL	HbSAg	FTabs	HIV	Hemograma	HCV	HTLV
() Positivo	() Positivo	() Positivo	() Positivo	Hb(%) _____	() Positivo	() Positivo
() Negativo	() Negativo	() Negativo	() Negativo	Ht(%) _____	() Negativo	() Negativo
() Não informado	() Não informado	() Não informado	() Não informado	() Não informado	() Não informado	() Não informado
Data do exame ____/____/____	Data do exame ____/____/____	Data do exame ____/____/____	Data do exame ____/____/____	Data do exame ____/____/____	Data do exame ____/____/____	Data do exame ____/____/____
Outros Exames:						
Exames avaliados por:						

Tomou vacina de febre amarela? () Sim () Não Quando? _____

Transfusão sanguínea no último ano? () Sim () Não

Possui () Tatuagem () Piercing. Realizado em que ano? _____

Intercorrências na gestação? _____

História atual

Tabagismo () Não () Sim. Quantos cigarros por dia _____

Etilismo () Não () Sim. Com que frequência? () Todos os dias () Fim de semana () Uma vez na semana

Uso de drogas	
Ilícitas	Medicamentosas

Doenças pré- existentes: () Hipertensão () Diabetes () Hipotireoidismo () Hipertireoidismos

Intercorrências pós-parto: _____

Intercorrências atuais: _____

Apta () Sim () Não – Data ____/____/____

Responsável Médico (assinatura e carimbo): _____

Nome	Sexo	Idade	Endereço	Telefone	Data do exame	Resultado

Nome	Sexo	Idade	Endereço	Telefone	Data do exame	Resultado

ANEXO 2

Checklist para submissão do manuscrito ao Periódico Acta Paediatrica

CHECKLISTManuscript submission via actapaediatrica.com**GENERAL**

- Approval of the paper for publication (**Author Statements**) signed by all authors (electronic signatures are acceptable).
- Clear statement that the study has been approved by an institutional ethics committee where appropriate.
- Reports on randomized trials must conform to **CONSORT guidelines** and should be submitted with their protocols. Please state trial registration number and authority. For other study types, please follow the appropriate guideline: <http://www.equator-network.org/reporting-guidelines>
- In case a manuscript contains photographs of patients, we require a certificate by the author that consent to publish such a photograph has been given by the child's parent or caretaker.
- Manuscripts should be formatted double-spaced in font size Arial 11 or similar. Use the SI-system of notation.
- Manuscripts arranged as follows: title page, abstract, key notes, key words, text, acknowledgements, complete list of abbreviations used (for publication in article info box – non standardized abbreviations should be avoided), statements of conflict of interest and of funding, references, tables, figure legends, figures (each part starting on a new page)
- Compliance with permitted number of pages. Each published page will incur a charge of **GBP 60.-/exceeding page**.
- Supporting Information for online publication. [Guidelines for Supporting Information](#)
- Revision of the language is the responsibility of the author. For English-language editing please see: http://wordwizard.info/Site/Academic_Editing.html or email: annette.wizard@gmail.com

TITLE

- The main title should be a single sentence, without colons, that explains what the study found, not just what the study was about. We encourage authors to do this in 15 words if they can, but there is some flexibility as this is not always possible if you need to use long medical terms. Please restrict yourself to a maximum of 20 words in such cases. Only the first letter of the title should be capitalised, unless it contains a proper noun, and it should not include abbreviations. The short, running title needs to be more simple and focus on the subject of the study in five or six words. The same rules about capitals and abbreviations apply. The title of your study should conform to the relevant title guidelines for the type of study, which can be found here: <http://www.equator-network.org/reporting-guidelines>

ABSTRACT

- The Abstract structured with (headings) emphasis on: **Aim, Methods, Results** and ending with one or two sentences of **Conclusion** summarizing the message of the article.
- To optimize your abstract for search-engines please see <http://authorservices.wiley.com/bauthor/sco.asp>
- Maximum five keywords listed alphabetically and suitable for indexing purposes. The Key Words should neither be too general (eg. infant, infection) nor too specific.
- Formatted as illustrated below:
Abstract (example)
Aim: To determine whether primary ... (text) *Methods:* In 38 patients with Rett syndrome... *Results:* ... *Conclusion:*

KEY NOTES

- In Regular Articles, Review Articles and Mini-Reviews, after the Abstract, please sum up your article in three bulleted short sentences of max. 70 words in total, with the aim of creating an easy digestible take-home message for the reader.
- Key Notes should not introduce facts that are not contained in the abstract.
- Please note that you should not use abbreviations in Abstract and Key Notes without first using terms in full. They should be regarded as stand-alone items and provide a concise summary of your paper.

FIGURES

- Publication of figures (black/white and colour) is free of charge.

REFERENCES

- Text indicators numbered sequentially with Arabic numerals in parentheses
- Journal title abbreviations conforming with the *Index Medicus* listing
- The *Vancouver Style* recommendations followed
- Presented as illustrated below: (*When more than six authors, list first six and then add "et al"*)

1. Pejovic N, Trevisanuto D, Nankunda J, Tylleskär T. Pilot manikin study showed that a supraglottic airway device improved simulated neonatal ventilation in a low-resource setting. *Acta Paediatr* 2016; 105: 1440-3.
2. Nolan J, Richmond S, Wyllie J. Newborn life support. In Nolan J, editor. *2010 Resuscitation Guidelines*. London, UK: Resuscitation Council (UK), 2010: 118-27
3. Lasjaunias P, ter Brugge KG, Berenstein A. *Surgical neuroangiography: vol. 3: clinical and interventional aspects in children*. Vol. 3. 2nd ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 2001: 1-25.
4. Bellicini CV, Tei M, Coccina F, Buonocore G. Sensorial saturation for infants' pain. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25(Suppl 1): 79-81.

For EndNote users: Please download our style through this link <http://endnote.com/downloads/style/acta-paediatrica>

RECOMMENDED NUMBER OF PAGES, REFERENCES, ETC, FOR VARIOUS TYPES OF ARTICLES

Type of article	No. of references	Abstract	Key Notes	Max no. of printed pages	Headings	Keywords
Regular	30	Yes 200 words	Yes	4 (= 12 ms pages*) approx. 3250 words #	Yes	Yes
Short Commentary concerning articles published in the journal	5	No	No	1/2 printed page, or max. 500 words #	No	No
Brief Report	5	No	No	2 printed page, or max 1000 words and 1 table or figure	No	No
Editorial	10	No	No	2 pages, or max. 1500 words	No	No
Clinical Overview	30	Yes 100 words	No	3 (= 9 ms pages*) approx. 2400 words #	No	Yes
EBNEO Commentary	9	No	No	1/2 page, or max. 500 words	No	No
Perspectives/ Paediatric Essays	5	No	No	2 (= 6 ms pages*) approx. 1550 words #	Yes	No
Letter concerning articles published in the journal	3	No	No	1/2 printed page, or max. 500 words #	Yes	No
Review Article	60	Yes 200 words	Yes	8 (= 24 ms pages*) approx. 6650 words #	Yes	Yes
Mini Review	30	Yes 200 words	Yes	4 (= 12 ms pages*) approx. 3250 words #	Yes	Yes
A Different View	10	No	No	2 (= 6 ms pages*) approx. 1550 words #	Yes	No

* Ordinary double-spaced manuscript pages - tables, illustrations and references included (i.e. the more space tables and illustrations require, the shorter the text).

Tables and illustrations not included

ANEXO 3

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (IFF/FIOCRUZ)

 Plataforma Brasil		DETALHAMENTO	
Título do Projeto de Pesquisa	Fatores perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras atendidas em um Banco de Leite Humano		
Número do CAAE:	97982918.5.0000.5269		
Número do Parecer:	2.907.967		
Quem Assinou o Parecer:	Ana Maria Aranha Magalhães Costa		
Pesquisador Responsável:	Maria Elizabeth Lopes Moreira		
Data Início do Cronograma: Agosto de 2018	Data Fim do Cronograma: Março de 2020	Contato Público:	

<http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/visao/publico/indexPublico.jvs>