

Composição do leite humano e microbiota predominantemente bífida do lactente em aleitamento materno exclusivo

Composition of the human milk and microbiota predominantly bífida of the infant in exclusive maternal breast feeding

ABSTRACT

BORBA, L.M.; CASTRO, L.C.V.; FRANCESCHINI, S.C.C.; FERREIRA, C.L.L.F. Composition of the human milk and microbiota predominantly bífida of the infant in exclusive maternal breast feeding. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v.25, p. 135-151, jun., 2003.

Human milk represents a food rich in nutrients and protecting factors for the newborn, whom during the birth process, and in the contact with the mother and surrounding environment, has the intestinal tract colonized by microorganisms. Human milk composition may present variations in regard to vitamins, lactoferrin, oligosaccharides, fatty acid, and minerals, among other components. The development of the intestinal microbiota is favored in infants under exclusive breastfeeding due to components of the human milk that are growth promoting factors for bifidobacteria. This microorganism protects the baby by competitive exclusion with potential pathogens, organic acid production and consequent pH reduction. In this context, Human Milk Banks carry out important function by supplying food requirements of the premature newborn or for those that are disabled to receive their own mother's milk. Processed human milk is pasteurized in the banks to assure microbiological safety of the food. However, this thermic treatment reduces some milk components that can be indispensable for the establishment of the Bifidobacterium in the newborn's intestinal tract.

Keywords: human milk; milk composition, nutritional status, intestinal microbiota; bifidobacteria; pasteurization

LUCIANA MARIA BORBA¹; LUIZA CARLA VIDIGAL CASTRO²; SYLVIA DO CARMO CASTRO FRANCESCHINI³; CÉLIA LÚCIA DE LUCES FORTES FERREIRA⁴

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR; ^{2,3}Departamento de Nutrição e Saúde/UFV;

⁴Departamento de Tecnologia de Alimentos/UFV.

Endereço para correspondência:

Av. PH Rolfs, s/n.
Campus Universitário
CEP 36571-000
Viçosa, MG.
e-mail: sylvia@ufv.br

RESUMEN

La leche humana constituye un alimento rico en nutrientes y factores de protección para el recién nacido. Después del nacimiento y debido al parto, al contacto con la madre y el ambiente, el recién nacido comienza a tener el tracto intestinal colonizado por microorganismos. La composición de la leche humana varía con relación a vitaminas, lactoferrina, oligosacáridos, ácidos grasos y minerales, entre otros componentes. El crecimiento de la microbiota intestinal es favorecido en los lactantes que reciben exclusivamente leche materna debido a los factores promotores del crecimiento de bifido bacterias que esta contiene. Estos microorganismos presentan características que inhiben competitivamente los potenciales patógenos, produciendo ácidos orgánicos con la consecuente disminución del pH. Dentro de este contexto, los Bancos de Leche Humana cumplen una importante función al suplir las necesidades alimentares de recién nacidos prematuros o discapacitados que así reciben la leche de sus propias madres. La leche es pasteurizada en los bancos de leche para garantizar la seguridad microbiológica. Sin embargo, el tratamiento térmico reduce algunos de sus constituyentes los cuales pueden ser indispensables para el establecimiento del género bifido bacterias en el intestino de los recién nacidos.

Palabras clave: leche humana; composición de la leche; microbiota intestinal; bifido bacterias; pasteurización

RESUMO

*O leite humano constitui-se em alimento rico em nutrientes e fatores de proteção para o bebê, que a partir do nascimento, através do parto, no contato com a mãe e meio ambiente, passa a ter o trato intestinal colonizado por microorganismos. A composição do leite humano pode apresentar variações quanto à vitaminas, lactoferrina, oligossacarídeos, ácidos graxos e minerais, entre outros componentes. O desenvolvimento da microbiota intestinal é favorecido em lactentes em aleitamento exclusivo devido aos componentes do leite humano que são fatores promotores do crescimento de bactérias bifidas. Este microorganismo apresenta características protetoras competindo com potenciais patógenos, por exclusão competitiva, produção de ácidos orgânicos e conseqüente redução do pH. Neste contexto, os Bancos de Leite Humano desempenham importante função ao suprir as necessidades alimentares dos recém-natos prematuros ou incapacitados de receberem o leite de sua próprias mães. O leite processado nos bancos é pasteurizado a fim de garantir a segurança microbiológica deste alimento. Entretanto, este tratamento térmico reduz alguns constituintes do leite que podem ser imprescindíveis para o estabelecimento do Gênero *Bifidobacterium* no trato intestinal dos bebês.*

Palavras-chave: leite humano; composição do leite; estado nutricional; microbiota intestinal; bactérias bifidas; pasteurização

INTRODUÇÃO

O leite humano é uma mistura complexa de nutrientes que proporciona ao lactente alimentação e proteção suficientes para seu crescimento e desenvolvimento. Rico em carboidratos, gorduras, proteínas, compostos nitrogenados não-protéicos, vitaminas, minerais, enzimas, imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento e substâncias bioativas, nutre e protege o recém-nascido desde o período inicial de sua adaptação à vida extra-uterina (SLUSSER e POWERS, 1997; POWERS e SLUSSER, 1997).

Diversos fatores podem influenciar na composição do leite humano, como o estágio da lactação, a idade gestacional, o período (anterior, médio ou posterior) da amamentação, a frequência da demanda do recém-nato pelo leite, e o grau de preenchimento das mamas, além da dieta alimentar e do estado nutricional da mãe. São relatadas diferenças inclusive entre mamas, entre os períodos do dia e dias diferentes, inter- e intralactantes, e relacionadas à idade, aspectos físicos e emocionais da nutriz (NEVILLE et al., 1984; NÓBREGA, 1996; PITKIN e HAMOSH, 1991; RIORDAN, 1999). A presente revisão tem por objetivo abordar a composição do leite humano e suas alterações, buscando enfatizar o efeito prebiótico do mesmo, bem como o efeito da pasteurização na concentração de seus nutrientes.

COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO

O colostro, secreção produzida no início da lactação, em média até o 4º dia pós-parto (VIVERGE et al., 1990a), é um líquido espesso, amarelado e com concentração elevada de alguns componentes, como oligossacarídeos, minerais, lactoferrina, carotenóides e proteínas, especialmente as com funções imunológicas, e teor reduzido de gorduras e carboidratos, em comparação aos leites de transição e maduro (RIORDAN, 1999; EUCLYDES, 2000).

Em um período intermediário, entre o colostro e o leite denominado maduro, as glândulas mamárias sintetizam o leite de transição, entre o 2º e 5º dias após o parto, cuja composição varia progressivamente com o decorrer do tempo (VIVERGE et al., 1990a).

A secreção láctea começa a estabilizar-se a partir do 5º dia pós-parto e, em média, dentro de duas a três semanas, a composição torna-se menos variável, embora muitos autores relatem diferentes períodos para que o leite possa ser considerado como leite maduro (VALDÉS et al., 1996).

O Quadro 1 apresenta a composição média do colostro e do leite maduro.

Componente	Colostro	Leite maduro (≥ 30 dias)
Proteína total (g)	23	8-10
Caseínas		2,5
Proteínas do soro		7,0
α-lactalbumina		2,6
lactoferrina		1,7
lisozima		0,5
albumina		0,5
imunoglobulinas		1,05
outras		0,7
Nitrogênio não-protéico		0,5
Carboidratos (g)		
Lactose	53	72,0 (± 2,5)
Oligossacarídeos	-	18,5
Gordura (g)	29	39,0 (± 4,0)
Vitaminas		
Vitamina A (μg)	890	670 (± 200)
β-Caroteno (μg)	1120	150
Vitamina D (μg)	-	0,55 (± 0,10)
Vitamina E (mg)	12,8	2,3 (± 1,0)
Vitamina K (μg)	2,3	2,1 (± 0,1)
Vitamina C (mg)	44	40 (± 10)
Vitamina B ₁₂ (μg)	2	0,97
Vitamina B ₆ (mg)	0,12	93 (± 8)
Tiamina (mg)	0,15	0,21 (± 0,033)
Riboflavina (mg)	0,25	0,35 (± 0,025)
Niacina (mg)	0,75	1,5 (± 0,20)
Ácido fólico (μg)	-	85 (± 37)
Biotina (μg)	1	4 (± 1)
Ácido pantotênico (mg)	1,83	1,80 (± 0,20)
Minerais		
Cálcio (mg)	230	280 (± 26)
Magnésio (mg)	34	35 (± 2)
Sódio (mg)	480	180 (± 400)
Potássio (mg)	740	525 (± 35)
Cloro (mg)	910	420 (± 60)
Fósforo (mg)	140	140 (± 22)
Enxofre (mg)	220	-
Cromo (μg)	-	50 (± 5)
Cobre (μg)	0,46	0,25 (± 0,03)
Flúor (μg)	-	16 (± 5)
Ferro (mg)	0,45	0,3 (± 0,1)
Iodo (μg)	120	110 (± 40)
Manganês (mg)	-	6 (± 2)
Selênio (μg)	-	20 (± 5)
Zinco (mg)	5,40	1,2 (± 0,2)

Fonte: adaptado de LÖNNERDAL (1985); LÖNNERDAL e FORSUM (1985); LÖNNERDAL (1996) por EUCL YDES (2000).

Quadro 1 Composição do leite humano em concentração/litro

FATORES QUE INTERFEREM NA COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO

O estado nutricional, composição corporal e nível sócio-econômico da mãe estão entre os fatores que podem influenciar em alguns componentes do leite humano. Efeito reduzido na quantidade total de nutrientes pode ocorrer se a ingestão de um macronutriente encontra-se usualmente abaixo da recomendada; em países com provisão limitada de alimentos e condição marginal de dieta alimentar podem ocorrer alterações significativas no estado nutricional da mãe e conseqüente concentração energética reduzida no leite, como observado na Índia por BROWN et al. (1986).

Por outro lado, o Índice de Massa Corporal não tem sido correlacionado com o desempenho na lactação até o sexto mês pós-parto (BARBOSA et al., 1997; PRENTICE et al., 1994).

Quanto ao volume, o consumo energético, a composição corporal e a situação econômica não parecem interferir no volume do leite humano (VILLALPANDO et al., 1991). Entretanto, a influência específica da dieta no volume de leite tem sido pouco investigada, ainda que alguns estudos em países em desenvolvimento tenham sugerido uma correlação positiva entre a ingestão de proteínas e o volume da secreção láctea (PITKIN e HAMOSH, 1991).

Com relação às proteínas totais e ao nitrogênio não-protéico, há algumas evidências de que a dieta, a composição corporal e o estado sócio-econômico influenciem a concentração protéica específica do leite (FORSUM e LÖNNERDAL, 1980; SANCHEZ-POZO et al., 1987). Estudo realizado com lactantes, no Texas, demonstrou que o balanço de nitrogênio teve relação com a composição do leite, avaliado pelo fluxo de lisina e incorporação de leucina (MOTIL et al., 1989).

Estudos avaliando mães brasileiras, observaram que o nível sócio-econômico não interferiu na composição protéica do leite, exceto para nitrogênio não-protéico (BRASIL et al., 1996; QUEIROZ et al., 1996). A concentração de nitrogênio não-protéico aumentada em mães de nível sócio-econômico baixo deve-se, possivelmente, à elevação de imunoglobulinas, pela exposição mais freqüente aos contaminantes ambientais (SANCHEZ-POZO et al., 1987). Porém, os mesmos autores observaram que na Espanha, em mães com nível sócio-econômico alto, a β -caseína e α -lactalbumina foram, em média, significativamente elevadas no leite (SANCHEZ-POZO et al., 1987).

Entre as proteínas, a lisozima e a lactoferrina têm função protetora importante. A lisozima é uma enzima termo-sensível, que degrada a parede celular bacteriana, protegendo o hospedeiro de infecções e apresenta-se em concentração média de 0,4g/l (SANCHEZ-POZO et al., 1987; KASSIM, 1996). A lactoferrina, uma das proteínas presentes em maior concentração no leite humano (aproximadamente 1,5g/l) é sintetizada na glândula mamária. Apresenta resistência parcial à proteólise e termossensibilidade; inibe microrganismos patogênicos pela competição por íons férricos, e tem efeito positivo para bactérias bífidas (LÖNNERDAL, 1985; MILLER-CATCHPOLE, 1997).

A lisozima e a lactoferrina variam com o período da lactação e padrão sócio-econômico, havendo, em média, uma correlação negativa sob o segundo aspecto para ambas as proteínas, ou seja, nutrízes de menor nível sócio-econômico apresentaram maior teor destas proteínas protetoras no leite (SANCHEZ-POZO et al., 1987).

A imunoglobulina A apresenta variação ligada ao estado nutricional da mãe em decorrência da época do ano (estação seca ou de chuvas), e entre as mamas da nutriz (WEAVER et al., 1998).

Com relação aos carboidratos, a concentração de lactose é relativamente constante entre as lactantes, porém pode ser afetada pela dieta materna e, inclusive, em função das estações chuvosa ou seca, em que há, respectivamente, escassez ou abundância de alimentos, o que foi verificado por PRENTICE (1999) em mães na Gâmbia.

Em adição à lactose, o leite humano contém cerca de 130 oligossacarídeos diferentes em concentração média de 1,85g/100ml, variando de 1,2 a 1,4g/100ml no leite maduro a 2,0-2,2g/100ml no colostro (GUDIEL-URBANO e GOÑI, 2001). Os oligossacarídeos são os componentes mais variáveis do leite, apresentando diferenças temporal e individual, ou seja, de acordo com o estágio da lactação e a capacidade genética da mãe em sintetizar ligações específicas no metabolismo destes compostos na glândula mamária (VIVERGE et al. 1990b; GUDIEL-URBANO e GOÑI, 2001). Entretanto, GUDIEL-URBANO e GOÑI (2001) relatam que esses componentes não são afetados pela dieta materna. De acordo com esses autores, os oligossacarídeos exercem um efeito antiinfecioso através de dois mecanismos: inibindo o crescimento de patógenos e estimulando o crescimento de bactérias benéficas, como as bifidobactérias.

Quanto aos lipídios, são os componentes mais variáveis do leite humano. Os tipos de ácidos graxos e suas concentrações têm relação direta com o nível sócio-econômico e a dieta da nutriz. PITA et al. (1985) verificaram que o conteúdo de ácido oléico foi menor no leite de mulheres de baixo e médio níveis sócio-econômicos, enquanto que o de ácidos linoléico e linolênico foi maior, o que pode ser explicado pelo fato de esse grupo consumir mais óleos vegetais, como o de soja, puro ou associado a outros óleos (girassol e oliva).

BRASIL et al. (1996), em investigação com mães brasileiras, concluíram que o nível sócio-econômico afetou significativamente as quantidades de gordura total e valor calórico do leite de mães adultas e, em adolescentes, houve tendência a valores aumentados, embora a idade da lactante não tenha demonstrado relação com a composição de ácidos graxos saturados e insaturados. ROCQUELIN et al. (1998) verificaram que o conteúdo de lipídios e a composição em ácidos graxos estão relacionados com o estado nutricional de mães congoleesas, de modo que a amamentação parcial pode não atender às necessidades dos lactentes.

Os minerais presentes em maiores concentrações, como cálcio, fósforo, magnésio, cloro, sódio e potássio não são afetados pela ingestão dietética da mãe. Porém, os minerais selênio, iodo, zinco, ferro e cobre estão positivamente associados com a dieta materna

(LÖNNERDAL et al., 1982; PITKIN e HAMOSH, 1991). Especificamente com relação à concentração de selênio, QUEIROZ e NÓBREGA (1996) observaram que o nível sócio-econômico das lactantes não determinou diferenças significativas, embora tenham conduzido a investigação com grupos de mães eutróficas.

A respeito das vitaminas, a dieta e os estoques corporais da mãe influenciam o seu conteúdo no leite, e a extensão da variação depende do tipo de vitamina. A ingestão constantemente diminuída de vitaminas pode resultar na produção de leite com quantidades menores destes nutrientes essenciais, ou alguns podem ser mantidos em níveis satisfatórios no leite às expensas dos estoques maternos (PITKIN e HAMOSH, 1991; RIORDAN, 1999; EUCLYDES, 2000).

BRONNER e AUERBACH (1999) afirmam que se a dieta materna está com conteúdo elevado de vitaminas hidrossolúveis, o nível no leite estará acrescido, pois esta classe de compostos associa-se mais aos padrões de ingestão e suplementação que as vitaminas lipossolúveis. Porém, conforme tem sido observado, a concentração de vitaminas A, E, D e K têm correlação com a dieta e sua suplementação (GEBRE-MEDHIN et al., 1976; GLASZIOU e MACKERRAS, 1996; IMONG, 1996; MINOUNI e TSANG, 1996; KRIES, 1996).

Segundo alguns autores, com exceção das vitaminas B₆ (STYSLINGER e KIRKSEY, 1985) e D (HOLLIS et al., 1991), iodo (GUSHURST et al., 1991) e selênio (MANNAN E PICCIANO, 1987), outros componentes do leite não são alterados se a lactante tem a dieta em níveis superiores aos recomendados.

O conteúdo de biotina no leite humano varia extremamente (0-27µg/l), aumentando com o tempo de lactação e está diretamente relacionado com a concentração plasmática materna (SALMENPERÄ et al., 1991), havendo elevação bastante acentuada quando há suplementação da dieta (de 13 a 485µg/l, após suplementação diária com 3mg) (HOOD e JOHNSON, 1991).

O ácido pantotênico, de forma semelhante, tem correlação direta significativa com a ingestão na dieta e suplementação, sendo verificado que o valor médio de 2,6µg/l elevou-se para 4,8µg/l mediante ingestão de mais de 1,0mg/dia (SONG et al., 1984). Quanto à vitamina B₁₂, as concentrações não tem relação direta com a ingestão pela mãe e não há resposta à suplementação. Segundo IMONG (1996), situações de carência se relacionam diretamente à deficiência presente em dietas exclusivamente vegetarianas.

Níveis de fosfato de piridoxal (CHANG e KIRKSEY, 1991) e de folatos (BROWN et al., 1991; CZEIZEL, 1996), respectivamente em concentrações de 50-250µg/l e 85µg/l, tem correlação positiva com a dieta; lactante em estado de deficiência relativa apresenta teores reduzidos no leite humano.

Quanto à tiamina, riboflavina e niacina, os valores médios encontrados são de 70-100µg/l, 350µg/l, e 1µg/l, respectivamente. As concentrações são dependentes da dieta da mãe e, se diminuídas, respondem com suplementação (NAIL et al., 1980; BATES et al., 1981; PRATT et al., 1991).

O quadro 2 relaciona a possível influência da dieta materna na composição do leite humano.

Componentes ou classe de componentes	Efeito da ingestão materna na composição do leite ^a	Componentes ou classe de componentes	Efeito da ingestão materna na composição do leite ^a
Macronutrientes		Minerais	
Proteínas	+	Cálcio	o
Lipídios	+ ^b	Fósforo	o
Carboidratos	o	Magnésio	o
Vitaminas		Sódio	o
Vitamina C	+	Potássio	o
Tiamina	+	Cloro	o
Riboflavina	+	Iodo	o
Niacina	+	Cobre	o
Ácido pantotênico	+	Zinco	+
Vitamina B ₆	+	Manganês	+
Biotina	+	Selênio	+
Folato	+	Iodo	+
Vitamina B ₁₂	+	Flúor	+
Vitamina A	+	Ferro	+
Vitamina D	+		
Vitamina E	+		
Vitamina K	+		

^a + significa efeito positivo da ingestão no conteúdo de nutriente no leite.

o significa que não há efeito conhecido da ingestão no conteúdo de nutriente do leite.

^b efeito parece ser no tipo de ácidos graxos presentes mas não no conteúdo de triglicérides ou colesterol no leite.

Fonte: adaptado de PITKIN e HAMOSH (1991).

Quadro 2 Possíveis influências da ingestão materna na composição do leite humano

É necessário considerar, entretanto, que a interferência dos esquemas de amostragem, nem sempre reflete o conjunto da produção láctea no decorrer de um dia, e pode ser causa de resultados que venham a sub- ou superestimar as taxas de secreção verificadas, e o desempenho na lactação, dissimulando as possíveis influências da nutrição materna no leite, assim como as metodologias que apresentem variações, no que concerne não somente às determinações, mas também à forma de interpretação dos resultados (VILLALPANDO et al., 1991).

MICROBIOTA INTESTINAL DO LACTENTE EM ALEITAMENTO MATERNO EXCLUSIVO

O trato gastrointestinal do feto normal é estéril, porém durante o processo de nascimento e, logo após, a exposição aos microrganismos provenientes da mãe e do meio ambiente iniciam o desenvolvimento de uma microbiota densa, amplamente diversa e relativamente estável ao longo da vida (ADLERBERTH, 1998; MACKIE et al., 1999).

Em seguida ao parto, os recém-nascidos são continuamente expostos a novos microrganismos veiculados com o alimento, inclusive o leite materno, pois este possui uma carga microbiana contaminante variável entre $10^2 - 10^9$ microrganismos/ml, originada do mamilo, ductos lactíferos, pele circundante e mãos maternas (ALMEIDA, 1986; TANNOCK et al., 1990).

O isolamento, identificação e caracterização do grande número de espécies presentes no intestino tem sido objeto de estudos, mas a completa avaliação qualitativa e quantitativa constitui-se em um processo extremamente difícil e demorado. Certamente, a aplicação das modernas técnicas moleculares têm permitido avanços relevantes para o estudo da aquisição e desenvolvimento desta comunidade microbiana, que está possibilitando a compreensão não somente da aquisição inicial e colonização, mas de subsequente sucessão e dos mecanismos de interação entre microrganismos e o hospedeiro (MACKIE et al., 1999).

A colonização pode ser descrita como uma população bacteriana estável em tamanho, ao longo do tempo, sem a necessidade de reintrodução periódica, o que implica em multiplicação do microrganismo em um nicho particular, em uma relação que iguala ou excede sua taxa de eliminação ou ocorrência naquele sítio (FRETER, 1992). A microbiota intestinal é um ecossistema complexo que se inicia com a colonização do trato gastrointestinal, e se estabelece gradualmente pela implantação de diferentes cepas de microrganismos, com predominância de bactérias, em que interações simbióticas e antagônicas acontecem simultaneamente (BENGMARK, 1998).

Bactérias nativas não se distribuem ao acaso no trato gastrointestinal, e sim são encontradas em níveis populacionais e em distribuições de espécies que são características de regiões específicas. O estômago e o intestino delgado proximal contém números relativamente baixos de microrganismos ($10^3 - 10^5/g$) devido ao baixo pH e fluxo rápido desta região. A região distal ou íleo mantém uma microbiota mais diversa e um número maior de bactérias ($10^4 - 10^8/g$) que a região superior, sendo considerada uma zona de transição precedendo o intestino grosso. Essa região, de baixo *turnover*, caracteriza-se por elevada densidade populacional de bactérias ($10^{10} - 10^{12}/g$) e relativa estabilidade. No cólon, há a estimativa de cerca de 400 espécies presentes, ainda que, provavelmente, 30 a 40 espécies constituam 99 por cento da microbiota. (MITSUOKA, 1977; BERG, 1996; MITSUOKA, 1996; TANNOCK, 1998).

No estabelecimento da microbiota intestinal, o teor elevado de oxigênio no intestino do recém-nascido favorece inicialmente o crescimento de bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, como enterobactérias, enterococos e estafilococos. Com o consumo

do oxigênio por estes grupos, o ambiente torna-se altamente reduzido e, portanto, adequado ao crescimento de bactérias anaeróbias obrigatórias, promovendo a proliferação de bifidobactérias, bacteróides e clostrídios. Pelo aumento das populações de anaeróbios estritos, as espécies de aeróbios e anaeróbios facultativos tendem a diminuir, possivelmente devido à redução nos nutrientes utilizáveis em meio com baixo potencial de óxido-redução (MITSUOKA, 1977; MITSUOKA, 1996; MACKIE et al., 1999). Esta colonização microbiana é regulada, portanto, pelo próprio meio devido à presença dos diversos grupos que se estabelecem à medida que as condições apresentam-se favoráveis com relação ao potencial redox, substâncias inerentes ao metabolismo dos próprios microrganismos, interações microbianas, fatores fisiológicos do hospedeiro, e aos nutrientes provenientes da dieta alimentar (BENNO et al., 1984; BERG, 1996).

A presença da microbiota bífida é situação desejável em todos os bebês, especialmente nos prematuros, que geralmente apresentam baixo peso, imaturidade imunológica e, muitas vezes, maior predisposição a infecções gastroentéricas, entre outras complicações. As bactérias do gênero *Bifidobacterium* ssp. exercem efeitos regulatórios no crescimento de outras bactérias colônicas, produzem ácidos orgânicos (acético e lático), e mantém o meio adverso ao desenvolvimento de espécies potencialmente patogênicas, além de exercerem efeitos probióticos para o hospedeiro (FULLER, 1989; GIBSON e WANG, 1994; WOLIN et al., 1998).

O leite humano apresenta características de baixo conteúdo protéico e reduzida capacidade tamponante, que mantém o meio intestinal ácido, desestimulando o crescimento de espécies bacterianas indesejáveis, além de conter substâncias promotoras do crescimento de bifidobactérias (COLLINS e GIBSON, 1999). Neste contexto, bebês exclusivamente amamentados apresentam populações superiores de bifidobactérias quando comparados com os alimentados com fórmulas lácteas ou leite de vaca, nos quais predominam enterobactérias, clostrídios e enterococos (LIEPKE et al., 2002).

Recentemente, RUBALTELLI et al. (1998) verificaram que neonatos amamentados têm a incidência significativamente maior de *Bifidobacterium*, reinterando resultados similares aos previamente descritos na literatura por muitos outros pesquisadores (MITSUOKA, 1977; BALMER e WHARTON, 1989; BENNO et al., 1984; MITSUOKA, 1996).

Os fatores promotores do crescimento de bactérias bífidas estão presentes na secreção láctea e, embora variáveis em concentração e composição, têm influência marcante sobre a composição da microbiota intestinal. Constituintes com propriedades estimuladoras do crescimento de bifidobactérias, como oligossacarídeos nitrogenados, glicoproteínas, lactoferrina e proteínas têm sido estudados.

BEZKOROVAINY e NICHOLS (1976) verificaram que glicoproteínas de soro de leite maduro estimularam uma espécie de bifidobactéria. PETSCHOW e TALBOTT (1990) demonstraram *in vitro* o efeito de frações protéicas do leite humano (proteínas do soro e caseína) e de nitrogênio não protéico no crescimento de espécies de bactérias bífidas de origem infantil. Segundo MILLER-CATCHPOLE et al. (1997) a lactoferrina está envolvida

na transferência de ferro diretamente para o microrganismo, num mecanismo de resistência à presença de oxigênio no meio. LIEPKE et al. (2002) identificaram peptídeos do leite humano que estimulam o crescimento de *B. bifidum*, derivados da lactoferrina (leite maduro) e receptores de imunoglobulinas solúveis (colostró).

COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO E ALTERAÇÕES NAS CARACTERÍSTICAS NORMAIS DA MICROBIOTA INTESTINAL PREDOMINANTEMENTE BÍFIDA

O Genêro *Bifidobacterium* caracteriza-se, em termos nutricionais, por necessidades de nutrientes essenciais para seu crescimento, podendo ser considerado fastidioso e exigente. Necessita das vitaminas biotina, B₆ e B₁₂, folato, pantotenato de cálcio, e mesmo riboflavina, pois algumas cepas não tem capacidade de síntese, além do aminoácido cisteína, conforme verificado *in vitro* por HASSINEN et al. (1951) com base no meio de NORRIS et al. (1950). Em adição, necessitam de sais de magnésio, ferro, manganês, sulfato e cloreto de sódio, podendo utilizar sais de amônia como única fonte de nitrogênio (HASSINEN et al., 1951; SCARDOVI, 1986; BLAVATI et al., 1992).

Diante do exposto anteriormente, quanto à composição do leite humano relacionada com as diferenças devidas ao estado nutricional e à dieta da mãe, as concentrações reduzidas de vitaminas, oligossacarídeos e lactoferrina podem determinar o grau de favorecimento para a colonização do trato intestinal por espécies de *Bifidobacterium* spp.

Portanto, há a possibilidade de que o leite de mães de nível sócio-econômico baixo, e conseqüente dieta alimentar comprometida em termos quali-quantitativos, possa ter influência no desenvolvimento e estabelecimento da microbiota intestinal dos recém-natos.

EFEITO DA PASTEURIZAÇÃO DO LEITE HUMANO E POSSÍVEL INTERFERÊNCIA NO ESTABELECIMENTO DA MICROBIOTA PREDOMINANTEMENTE BÍFIDA DO RECÉM-NATO

Os bancos de leite humano desempenham função importante para o aleitamento de bebês prematuros e/ou de baixo peso ao nascer; bebês impossibilitados de sugar ou de mães que estejam impossibilitadas de amamentá-los; recém-natos infectados, especialmente com enteroinfecções; portadores de deficiências imunológicas; diarreia protraída, entre outras indicações.

A pasteurização do leite nos Bancos de Leite Humano constitui-se em um processo imprescindível do ponto de vista de segurança microbiológica deste alimento, que tem uma carga microbiana contaminante proveniente do procedimento de coleta ou ordenha.

Considerando que o leite humano dos bancos provém de mães que espontaneamente o doam e que, portanto, têm diferentes características sociais e econômicas, e que os bebês receptores encontram-se em diferentes condições fisiológicas, ou mesmo

patológicas, as possíveis alterações decorrentes da pasteurização passam a ter importância fundamental no sentido de que podem vir a influenciar no desenvolvimento e balanço de sua microbiota intestinal.

A influência de diferentes tratamentos térmicos do leite humano sobre a estabilidade de alguns de seus constituintes foi investigada por FORD et al. (1977), que demonstraram que a pasteurização reduziu a lactoferrina do leite cerca de 70%. Entre outros componentes avaliados, como a capacidade de ligação de constituintes do leite às vitaminas cianocobalamina e ácido fólico, os autores observaram que a pasteurização afetou a ligação à cianocobalamina, que foi reduzida em cerca de 50%. Para ácido fólico a redução foi de cerca de 10% e de 75%, respectivamente por aquecimento a 62,5°C por 30 minutos ou 65°C por 15 minutos. A pasteurização lenta (62,5°C por 30 minutos) influenciou, ainda que de forma discreta, a absorção de ácido fólico por *B. bifidum*.

Quanto aos efeitos da pasteurização na composição de ácidos graxos e no conteúdo de gorduras disponível, FIDLER et al. (1998) e WU et al. (2001), constataram não ser afetado, em contraste com o processo de esterilização, que reduziu o conteúdo de gorduras disponível em cerca de 10%, e levou à discreta alteração na composição dos ácidos graxos.

Ao avaliar os efeitos de diferentes tratamentos térmicos do leite humano, é importante considerar a extensão das alterações de constituintes com funções protetoras, uma vez que o leite de doadoras se destina aos bebês que se encontram em condições que requerem cuidados especiais.

MAY (1988) em revisão sobre os fatores protetores presentes no leite humano, relata que, quando submetido à pasteurização lenta (62,5°C/ 30 minutos), o leite tem preservada a totalidade de oligossacarídeos e glicopeptídeos, porém perde cerca de 30% de IgA secretória, 30% de IgG, 75% de lisozima e 60% de lactoferrina.

Recentemente, COSTA e CARMO (2000) avaliaram o efeito da pasteurização do leite humano na redução de oligoelementos. Analisando leite de puérperas de parto a termo, encontraram reduções significativas ($p < 0,05$) para zinco (3%), cobre (9,4%), ferro (10,7%) e bromo (4,5%).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora pouca informação esteja disponível sobre os efeitos da pasteurização do leite humano, assim como informação limitada sobre a relação entre dieta materna e composição do leite, algumas considerações podem ser feitas.

Quanto às diferenças na composição do leite associadas ao estado nutricional da mãe, pode-se esperar que concentrações diminuídas de vitaminas, lactoferrina e minerais, associadas às perdas decorrentes do processo de pasteurização do leite humano nos bancos, venham a interferir de modo significativo no estabelecimento da microbiota intestinal dos recém-nascidos.

Além desta consideração, há a questão das condições higiênico-sanitárias, que embora não seja objeto da presente revisão, pode constituir-se em um fator que interfira na colonização do trato intestinal. Em países em desenvolvimento, grande parte da população vive em condições higiênico-sanitárias precárias e, portanto, os bebês encontram-se em ambientes em que há grande exposição a contaminantes, levando a maior competição pelos nichos ecológicos orgânicos.

Certamente mais estudos são necessários a fim de elucidar o nível de comprometimento dos bebês que recebem o leite dos bancos de leite, assim como esclarecer o efeito da pasteurização sobre componentes bioativos com função protetora, e a relevância da dieta materna na composição do leite, abrindo possibilidades, inclusive, para investigações no sentido de suprir as deficiências do leite humano que sejam decorrentes do tratamento térmico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/ REFERENCES

- ADLERBERTH, I. Estabelecimento da micr oflora intestinal normal do recém-nascido. In: *Probióticos, outros fatores nutricionais e a microflora intestinal*. Vevey, Suíça: Nestlé Ltd., 1998. p.7-10. [Nestlé Nutrition Workshop Series].
- ALMEIDA, J.A.G. *Qualidade do leite humano coletado e processado em bancos de leite*. Viçosa, MG. 1986. 68p. Dissertação. (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, MG.
- BALMER, SE; WHARTON, B.A. Diet and faecal flora in the newborn: breasts milk and infant formula. *Arch. Dis. Child.* v. 64. p.1672-77, 1989.
- BARBOSA, L.; BUTTE, N.F.; VILLALPANDO, S.; WONG, W.W.; SMITH, E.O. Maternal energy balance and lactation performance of Mesoamericans as a function of body mass index. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 66. p.575-83, 1997.
- BATES, C.J.; PRENTICE, A.M.; PAUL, A.A.; SUTCLIFFE, B.A.; WATKINSON, M.; WHITEHEAD, R.G. Riboflavin status in Gambian pregnant and lactating women and its implications for Recommended Dietary Allowances. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 34, p. 928-935, 1981.
- BENGMARK, S. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut.* v. 42, p. 2-7, 1998.
- BENNO, Y.; SAWADA, K.; MITSUOKA, T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiol. Immunol.* v. 28. p.975-86, 1984.
- BERG, R.D. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends. Microbiol.* v. 4. p.430-5, 1996.
- BEZKOROVAINY, A.; NICHOLS, J.H. Glycoproteins from mature human milk whey. *Pediatr. Res.* v. 10. p. 1-5, 1976.
- BIAVATI, B.; CROCIANI, F.; MATTARELLI, P.; SCARDOVI, V. The genus *Bifidobacterium*. In: BALOWS, A.; TRUPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHEIFER, KH. *The Prokaryotes*. 2nd ed. v. 2, p. 816-33, 1992.
- BRASIL, A.L.D.; VITOLO, M.R.; LOPES, F.A.; NOBREGA, F.J. Lipid and protein composition of mature milk of high and low socioeconomic level adolescent and adult mothers. In: NÓBREGA, F.J. (Ed). *Human milk composition*. São Paulo, SP: Revinter. 1996, p. 153-70.

- BRONNER, Y.L.; AUERBACH, K.G. Maternal nutrition during lactation. In: RIORDAN, J.; AUERBACH, K.G. (Eds). *Breastfeeding and human lactation*. 2nd ed. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers, 1999. p.515-39.
- BROWN, C.M.; SMITH, A.M.; PICCIANO, M.F. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation: milk composition*. Washington, D.C: National Acad. Press, 1991. p. 113-52.
- BROWN, K.H.; ROBERTSON, A.D.; AKHTAR, N.A. Lactational capacity of marginally nourished mothers: relationships between maternal nutritional status and quantity and proximate composition of milk. *Pediatr.* v. 78, n. 5, p. 909-19, 1986.
- CHANG, S.J.; KIRKSEY, A. Piridoxine supplementation of lactating mothers: relation to maternal status and vitamin B₆ concentrations in milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 51, p. 826-31, 1991.
- COLLINS, M.D; GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbiota ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 69, n. 5, p. 1052S-57S. 1999.
- COSTA, R.S.; CARMO, M.G.T. Efeito da pasteurização sobre os níveis de oligoelementos de colostros de puérperas no Rio de Janeiro, Brasil. In: CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. *Anais*. 2000.
- CZEIZEL, A.E. Ácido fólico. In: Vitaminas na gravidez e na primeira infância. *Anais Nestlé*. v.53, p. 22-9, 1996.
- EUCLYDES, M.P. Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação adequada. 2.ed. rev. atual. Viçosa, MG, 2000. 488p.
- FIDLER, N.; SAUERWALD, T.U; KOLETZKO, B.; DEMMELMAIR, H. Effects of human milk pasteurization and sterilization on available fat content and fatty acid composition. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, v. 27, n.3, p.317-322, 1998.
- FORD, J.E.; LAW, B.A.; MARSHALL, V.M.; REITER, B. Influence of the heat treatment of human milk on some its protective constituents. *J. Pediatr.* v. 90, n. 1, p. 29-35. 1977.
- FORSUM, E.; LÖNNERDAL, B. Effect of protein intake on protein and nitrogen composition of breast milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 33, p. 1809-13, 1980.
- FRETER, R. Factors affecting the microecology of the gut. In: Fuller, R. (Ed.) *Probiotics – the scientific basis*. New York: Chapman and Hall, 1992. p. 111-44.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* v. 66, p. 365-78, 1989.
- GEBRE-MEDHIN, M.; VAHLQUIST, A.; HOFVANDER, Y.; UPPSALL, L.; VAHLQUIST, B. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. I. Vitamin A and β -carotene. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 29, p. 441-51. 1976.
- GIBSON, G.R; WANG, X. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* v. 77, p. 412-20, 1994.
- GLASZIOU, P.P; MACKERRAS, E.M. Vitamina A. In: Vitaminas na gravidez e na primeira infância. *Anais Nestlé*. v.53, p. 1-11, 1996.
- GUDIÉL-URBANO, M.; GOÑI, I. Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante. *Arch. Latinoamericanas Nutr.* v.51, n.4, 2001, <www.scielo.org>
- GUSHURST, J.; MUELLER, J.A.; GREEN, J.A.; SEDOR, F. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C.: National Acad. Press. 1991. p. 113-52.
- HASSINEN, J.B.; DURBIN, G.T.; TOMARELLI, R.M.; BERNHART, F.W. The minimal nutritional requirements of *Lactobacillus bifidus*. *J. Bacteriol.* v. 62, p. 771-777. 1951.
- HOLLIS, B.W.; ROOS, B.A.; LAMBERT, P.W. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C. National Acad. Press. 1991. p.113-52.
- HOOD, R.L.; JOHNSON, A.L. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C.: National Acad. Press, 1991. p.113-52.

- IMONG, S. Resumo de artigos selecionados na literatura recente sobre vitaminas na gravidez e na infância. In: *Vitaminas na gravidez e na primeira infância. Anais Nestlé.* v. 53. p. 37-47. 1996.
- KASSIM, O.O. Review of selected papers from the recent literature on bioactive factors in milk. *Annales Nestlé.* v. 54, n. 3, p. 113. 1996.
- KRIES, R.V. Vitamina K. In: *Vitaminas na gravidez e na primeira infância. Anais Nestlé.* v. 53, p. 30-36. 1996.
- LIEPKE, C.; ADERMANN, K.; RAIDA, M.; MAGERT, H.J.; FORSSMANN, W.G.; ZUCHT, H.D. Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. *Eur J Biochem.* v. 269, p. 712-718, 2002.
- LÖNNERDAL, B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 42, p. 1299-1317. 1985.
- LÖNNERDAL, B. Lactoferrin in milk. *Annales Nestlé.* v. 54. p. 79-87. 1996.
- LÖNNERDAL, B.; FORSUM, E. Casein content of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 41, p.113-120. 1985.
- LÖNNERDAL, B.; HOFFMAN, B.; HURLEY, L.S. Zinc and copper binding proteins in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 36, p. 1170-1176. 1982.
- MACKIE, R.I.; SGHIR, A.; GASKINS, H.R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 69. n. 5. 1035S-45S. 1999.
- MANNAN, S.; PICCIANO, M.F. Influence of maternal selenium status on human milk selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 46, p. 95-100. 1987.
- MAY, J.T. Microbial contaminants and antimicrobial properties of human milk. *Microbiol. Sci.* v. 5, p. 42-6. 1988.
- MILLER-CATCHPOLE, R.; KOT, E.; HALOFTIS, G.; FURMANOV, S.; BEZKOROVAINY, A. Lactoferrin can supply iron for the growth of *Bifidobacterium breve*. *Nutr. Research.* v. 17, n. 2, p. 205-213. 1997.
- MINOUNI, F.; TSANG, R. Vitamina D. In: *Vitaminas na gravidez e na primeira infância. Anais Nestlé.* v. 53. p. 12-21. 1996.
- MITSUOKA, T. Ecology of the bifidobacteria. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 30, p. 1799-10. 1977.
- _____. Intestinal flora and human health. *Asia Pacific. J. Clin. Nutr.* v. 5, n. 1, p.2-9. 1996.
- MOTIL, K.J.; MONTANDON, C.M.; HACHEY, D.L.; BOUTTON, T.W.; KLEIN, P.D.; GARZA, C. Relationships among lactation performance, maternal diet, and body protein metabolism in humans. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 43, p. 681-91. 1989.
- NAIL, P.A.; THOMAS, M.R.; EAKIN, R. The effect of thiamin and riboflavin supplementation on the level of those vitamins in human breast milk and urine. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 33, p. 198-204. 1980.
- NEVILLE, M.C.; KELLER, R.P.; SEACAT, J.; CASEY, C.E.; ALLEN, J.C.; ARCHER, P. Studies on human lactation. I. Within- feed and between- breast variation in selected components of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 40, p. 635-46. 1984.
- NÓBREGA, F.J. *Human milk composition.* São Paulo, SP, Revinter. 1996. 236p.
- NORRIS, R.F.; FLANDERS, T.; TOMARELLI, R.M.; GYÖRGY, P. The isolation and cultivation of *Lactobacillus bifidus*: a comparison of branched and unbranched strains. *J. Bacteriol.* v. 60, p. 681-696. 1950.
- PETSCHOW, B.W.; TALBOTT, R.D. Growth promotion of *Bifidobacterium* species by whey and casein fractions from human and bovine milk. *J. Clin. Microbiol.* v.28, n.2, p.287-292. 1990.
- PITA, M.L.; MORALES, J.; SANCHEZ-POZO, A.; MARTINEZ-VALVERDE, J.A.; GIL, A. Influence of the mother's weight and socioeconomic status on the fatty acids composition of human milk. *Ann. Nutr. Metab.* v. 29, p. 366-73. 1985.
- PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. Summary, conclusions, and recommendations. In: *Nutrition during lactation.* Washington, D.C., National Acad. Press. 1991. p. 1-19.

- POWERS, N.G.; SLUSSER, W. Breastfeeding Update 2: clinical lactation management. *Pediatrics in Review*, v.18, n.4, p. 147-161. April, 1997.
- PRATT, J.P.; HAMIL, B.M.; MOYER, E.Z.; KAUCHER, C. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C. National Acad. Press. 1991. p. 113-52.
- PRENTICE, A.M. The biological specificity of breastmilk. In: RIORDAN J.; AUERBACH KG. (Eds.). *Breastfeeding and human lactation*. 2nd ed. Sudbury, MA: Ed. Jones and Bartlett Publishers. 1999. p. 121-61.
- PRENTICE, A.M.; GOLDBERG, G.R.; PRENTICE, A. Body mass index and lactation performance. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 48, Suppl. 3. S78-S89. 1994.
- QUEIROZ, S.S.; NÓBREGA, F.J. Selenium composition in the milk of high and low socioeconomic level adult nursing mothers. In: NÓBREGA F.J. (Ed.). *Human milk composition*. São Paulo, SP: Revinter. 1996. p. 206-14.
- QUEIROZ, S.S.; NÓBREGA, F.J.; RUGULO, L.M.S.; TRINDADE, C.E.P.; CURI, P.R. Total protein, protein nitrogen, and non protein nitrogen in colostrum, transitional and mature milk of mothers of term and preterm infants from different socioeconomic levels. In: NÓBREGA F.J. (Ed). *Human milk composition*. São Paulo, SP: Revinter. 1996. p. 225-36.
- RIORDAN, J. The biological specificity of breastmilk. In: RIORDAN J.; AUERBACH KG. (Eds.). *Breastfeeding and human lactation*. 2nd ed. Sudbury, MA: Ed. Jones and Bartlett Publishers. 1999. p. 121-61.
- ROCQUELIN, G.; TAPSOBA, S.; DOP, M.C.; MBEMBA, F.; TRAISSAC, P.; MARTIN-PRÉVEL, Y. Lipid content and essential fatty acid (EFA) composition of mature Congolese breast milk are influenced by mother's nutritional status: impact on infants' EFA supply. *Eur. J. Clin. Nutr.* v.52, n.3, p.164-171, 1998.
- RUBALTELLI, F.F.; BIADAIOLI, R.; PECILE, P.; NICOLETTI, P. Intestinal flora in breast- and bottle- fed infants. *J. Perinat. Med.* v. 26. p. 186-1919. 1998.
- SALMENPERÄ, P.; PERHEENTUPA, J.; PISPA, J.P. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C: National Acad. Press. 1991. p. 113-52.
- SANCHEZ-POZO, A.; LOPEZ MORALES, J.; IZQUIERDO, A.; MARTINEZ-VALVERDE, A.; GIL, A. Protein composition of human milk in relation to mothers weight and socioeconomic status. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 41, p. 115-25. 1987.
- SCARDOVI, V. Genus *Bifidobacterium*. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E.; HOLT, J.G. (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th ed. v. 2, p. 1418-34. 1986.
- SLUSSER, W.; POWERS, N.G. Breastfeeding Update 1: Immunology, Nutrition, and Advocacy. *Pediatrics in Review*, v.18, n.4, 111-119. 1997.
- SONG, W.O.; CHAN, G.M.; WYSE, B.W.; HANSEN, R.G. Effect of pantothenic acid status on the content of the vitamin in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 40, p. 317-24. 1984.
- STYSLINGER, L.; KIRKSEY, A. Effects of different levels of vitamin B₆ supplementation on vitamin B₆ concentrations in human milk and vitamin B₆ intakes of breastfed infants. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 41, p. 21-31. 1985.
- TANNOCK, G.W. *Microecologia dos lactobacilos e bifidobactérias que habitam o aparelho digestivo: conhecimentos básicos para o êxito na pesquisa sobre probióticos*. Vevey, Suíça: Nestlé Ltd., 1998. p.1-3. [Nestlé Nutrition Workshop Series].
- TANNOCK, G.W.; FULLER, R.; SMITH, S.L.; HALL, M.A. Plasmid profiling of members of the family *Enterobacteriaceae*, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J. Clin. Microbiol.* v. 28, n. 6. p. 1225-28. 1990.

- VALDÉS, V.; PÉREZ-SANCHES, A.; LABBOK, M. Manejo clínico da lactação. Assistência à nutriz e ao lactente. Rio de Janeiro: Revinter. 1996p. 29-90.
- VILLALPANDO, S.; SANTIAGO, S.; FLORES-HUERTA, S. Maternal nutritional status and milk volume. Is there a cause-effect relationship? *Archiv. Latin. Nutr.* v. 41. n. 3. p. 293-03. 1991.
- VIVERGE, D.; GRIMMONPREZ, L.; CASSANAS, G.; BARDET, L.; SOLERE, M. Discriminant carbohydrate components of human milk according to donor secretor types. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* v. 11, p. 365-70. 1990a.
- _____. Variations in oligosaccharides and lactose in human milk during the first week of lactation. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* v. 11, p. 361-64. 1990b.
- WEAVER, L.T.; ARTHUR, H.M.; BUNN, J.E.; THOMAS, J.E. Human milk IgA concentrations during the first year of lactation. *Arch. Dis. Child.* v. 78. p. 235-39. 1998.
- WOLIN, M.J.; ZHANG, Y.; BANK, S.; YERRY, S.; MILLER, T.L. NMR detection of $^{13}\text{CH}_3$ $^{13}\text{COOH}$ from 3- ^{13}C -glucose: a signature for *Bifidobacterium* fermentation in the intestinal tract. *J. Nutr.* v. 128, p. 91-96. 1998.
- WU, Z.C.; CHIJIANG, C.C.; LAU, B.H.; HWANG, B.; SUGAWARA, M.; IDOTA, T. Fat content and fatty acid composition of fresh, pasteurized, or sterilized human milk. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 501, p. 485-95. 2001.

Recebido para publicação em 25/03/03.

Aprovado em 30/06/03.