



Rede Brasileira de  
Bancos de Leite  
Humano

PNQBLH – Programa  
Nacional de Qualidade  
em Bancos de Leite  
Humano

Sede:  
FIOCRUZ/IFF-BLH  
Av. Rui Barbosa, 716 –  
Flamengo  
Rio de Janeiro CEP:  
RJ 20.550-020

Tel/fax: (021) 2553-6331  
www.redeblh.fiocruz.br

NOV 2011

BLH-IFF/NT- 30.11

## Leite Humano Ordenhado: Determinação do Crematócrito

### Origem

Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite  
Humano – Instituto Fernandes Figueira / Fundação Oswaldo  
Cruz / Ministério da Saúde

### Autores

João Aprígio Guerra de Almeida; Franz Reis Novak e  
Vander Guimarães

Palavras-Chave: Crematócrito. Leite Humano. Qualidade.

6 páginas

## SUMÁRIO

1. Objetivo
2. Documentos Complementares
3. Definições
4. Fundamentos
5. Ensaio
6. Leitura
7. Resultados

ANEXO – Formulário para Registro Mensal de Resultados

## 1. Objetivo

Esta Norma estabelece os procedimentos e critérios para determinação do crematócrito, que deve integrar o controle de qualidade de rotina dos Bancos de Leite Humano no que diz respeito ao controle físico-químico.

## 2. Documentos Complementares

Na elaboração desta Norma foram consultados:

RDC 171. Normas para Implantação e Funcionamento de Bancos de Leite Humano. DOU – 04/09/2006.

Programa Nacional de Qualidade em Bancos de Leite Humano – Manual do Participante. Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Fernandes Figueira – Rio de Janeiro. 2002.

## 3. Definições

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

**3.1. Crematócrito:** técnica analítica para a determinação do teor de creme, que permite o cálculo do teor de gordura e do conteúdo energético do leite humano ordenhado.

**3.2. Creme:** é a porção sobrenadante obtida a partir da centrifugação do leite. É constituída pela gordura empacotada, envolta por uma membrana fosfolipídica. São glóbulos muito pequenos, regularmente distribuídos pelo leite. Na membrana desses glóbulos podem ser encontradas as lípases e outras enzimas, além de diversos co-fatores.

## 4. Fundamentos

### 4.1. Quadro Teórico

O referencial teórico que confere sustentação técnico-científica aos fundamentos que compõem esta Norma foi extraído das seguintes fontes:

ALMEIDA, J. A. G., 1992. *O Leite Humano: aspectos relativos à composição* (filme-vídeo). 1 cassete VHS, 34 minutos, color., sonoro. Rio de Janeiro: Núcleo de Vídeo – CICT/Fundação Oswaldo Cruz.

ALMEIDA, J. A. G. & NOVAK, F. R., 1995. O leite humano: qualidade e controle. In: *Fisiologia e Patologia da Lactação* (Santos Jr., org.). Natal: Ed. Sociedade Brasileira de Mastologia.

ALMEIDA, J. A. G.; NOVAK, F. R. & SANDOVAL, M. H., 1998. Recomendaciones tecnicas para los bancos de leche humana II – Control de calidad. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 61(1):12-15.

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

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

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

## 4.2. Princípio

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

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

A fração suspensão é constituída de micelas de caseína, formadas por subfrações, como a  $\kappa$ -caseína,  $\gamma$ -caseína,  $\alpha$ -caseína,  $\alpha_{s1}$ -caseína, dentre outras. O sistema caseína forma uma suspensão coloidal do tipo gel, cuja estabilidade é conferida pela fração  $\kappa$ -caseína que envolve a micela.

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

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

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

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

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

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

Estudos acerca da proporcionalidade dos constituintes do leite humano permitiram o estabelecimento da relação matemática entre creme, soro, gordura e conteúdo energético. Assim, o leite humano com conteúdo energético baixo é rico em substâncias protetoras, sobretudo as que se destacam pela proteção química e biológica exercidas no trato digestivo do lactente.

## **5. Ensaio**

### **5.1. Equipamentos e Utensílios**

5.1.1. Pipetador automático manual com ponteiros descartáveis

5.1.2. Pipetas volumétricas de diversos volumes (no caso da falta do item 5.1.1)

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

5.1.4. Centrífuga para microhematócrito com *timer*.

5.1.5. Agitador tipo vórtex

5.1.6. Tubos de ensaio (5mL)

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

5.1.8. Banho-maria termostatizado, capaz de manter a temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$  conforme procedimento especificado

5.1.9. Massa para selar capilar ou bico de Bunsen para fechar

5.1.10. Régua graduada em frações de 1mm (régua de boa qualidade)

### **5.2. Determinação do Crematócrito**

5.2.1. Após homogeneização do frasco contendo o leite humano ordenhado, pipetar 1mL de leite a ser analisado e transferir esse volume para tubo de ensaio de 5mL.

5.2.2. Dispor as amostras de 1mL em estante revestida de PVC e aquecer em banho-maria a 40°C durante 15 minutos.

5.2.3. Uma vez transcorrido o tempo descrito em 5.2.2, coletar, de forma independente, 3 alíquotas de 75 microlitros, com auxílio de tubo microcapilar, de cada uma das amostras de leite humano ordenhado.

5.2.4. Vedar uma das extremidades

5.2.5. Dispor os capilares na centrífuga, posicionando as extremidades vedadas na direção centrífuga (para fora).

5.2.6. Posicionar os capilares sempre dois a dois, em diagonal, de modo a equilibrar o prato da centrífuga.

5.2.7. Centrifugar por 15 minutos, observando a velocidade que o fabricante da centrífuga indica para a realização do teste de micro-hematócrito.

5.2.8. Proceder à leitura após a centrifugação.

## **6. Leitura**

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

## **7. Resultados**

### **7.1. Teor de Creme**

Coluna de Creme (mm) x 100 ÷ Coluna Total (mm) = % de Creme

### **7.2. Teor de Gordura**

(% de creme – 0,59) ÷ 1,46 = % de Gordura

### **7.3. Conteúdo Energético Total**

(% de creme x 66,8 + 290) = Kcal/litro

7.4. Como para cada frasco de leite avaliado colheram-se três alíquotas em capilar, o valor final corresponde à média aritmética encontrada.

