

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE LEITE NA MICROBIOTA INTESTINAL

INFLUENCE OF DIFFERENT TYPES OF MILK THE INTESTINAL MICROBIOTA

Isabelly Tharesa Villella de Souza¹, Ariana dos Praseres Barros², Jonas Rodrigues Gimenes Barbosa dos Santos³, Camila Queiroz dos Santos⁴, Giovanna Isabella Alves Suza Bispo⁵ e Maíra de Assis Lima⁶

RESUMO

A maioria dos animais, senão todos, coexiste com um complemento de simbiontes procarióticos que conferem uma variedade de benefícios fisiológicos. Em humanos, a interação entre células animais e bacterianas é especialmente importante no trato gastrointestinal. Juntos, todos esses microrganismos abrigam um repertório de genes que codificam proteínas que excede em muito o pool genético encontrado em nosso genoma humano. Dentre suas principais funções, destacam-se a imuno modulação, contribuição nutricional e resistência à colonização por bactérias patogênicas.

Porém, Sofre alterações por fatores externos e internos como meio ambiente, anticoterápicos, alimentação, sistema imunológico, genético, probióticos e prebióticos. Muitos alimentos fermentados e iogurte em particular, contêm grandes quantidades de bactérias vivas, normalmente até 10⁹ UFC/g. Esses alimentos têm contribuído significativamente para a dieta humana desde o Neolítico, no entanto, até o momento, a maioria dos estudos não conseguiu identificar modulações significativas da microbiota intestinal humana residente sobre o consumo de alimentos fermentados. Levando em consideração a importância do leite para a nutrição e colonização por microrganismos do intestino de seres humanos, o objetivo deste trabalho é investigar a carga microbiológica dos diferentes tipos de leite e estudar a interferência destes na saúde humana e sua relação com a microbiota intestinal.

Palavras chave: Leite; Microbiota; Urinálise; Leucograma.

ABSTRACT

Most animals, if not all, coexist with a complement of prokaryotic symbionts that confer a variety of physiological benefits. In humans, the interaction between animal and bacterial cells is especially important in the gastrointestinal tract.

However, It undergoes changes by external and internal factors such as the environment, antibiotictherapeutics, food, immune system, genetic, probiotics and prebiotics. Many fermented foods and yogurt in particular contain large amounts of live bacteria, typically up to 10⁹ CFU/g. These foods have contributed significantly to the human diet since the Neolithic, however, to date, most studies have failed to identify significant modulations of the human intestinal microbiota residing on the consumption of fermented foods. Taking into account the importance of milk for nutrition and colonization by microorganisms of the intestine of humans, the objective of this work is to investigate the microbiological load of different types of milk and to study their interference in human health and its relationship with the intestinal microbiota.

Keywords: Milk; Microbiota; Urinalysis; Leucogram.

¹Isabelly T. V. Souza, graduando em Biomedicina, Estácio São Paulo, isabellytharesa@outlook.com

²Ariana P. Barros, graduando em Biomedicina, Estácio São Paulo, studioa.arianabarro@gmail.com

³Jonas R. G. B. Santos, graduando em Biomedicina, Estácio São Paulo, jonasrodrigues1205@gmail.com

⁴Camila Q. Santos, graduando em Biomedicina, Estácio São Paulo, camilaq335@gmail.com

⁵Giovanna I. A. S. Bispo, graduando em Biomedicina, Estácio São Paulo, giovannasouzacnt@gmail.com

⁶Maira A. Lima, Doutora em Biologia Celular, Estácio São Paulo, maira.alima@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A maioria dos animais, senão todos, coexiste com um complemento de simbiontes procarióticos que conferem uma variedade de benefícios fisiológicos. Em humanos, a interação entre células animais e bacterianas é especialmente importante no trato gastrointestinal (NEISH, 2009). Este é um órgão estéril ao nascimento, adquirindo microrganismos logo após o parto. A quantidade de flora encontrada no intestino delgado em um indivíduo normal é altamente dependente da localização da amostra; o intestino delgado superior é geralmente estéril (ou tem contagens microbianas muito baixas), enquanto o intestino delgado inferior contém uma flora que se aproxima muito mais da do intestino grosso (HENTGES, 1983). Dentre suas principais funções, destacam-se a imuno modulação, contribuição nutricional e resistência à colonização por bactérias patogênicas. Sofre alterações por fatores externos e internos como meio ambiente, anticancerígenos, alimentação, sistema imunológico, genético, probióticos e prebióticos (PAIXÃO; CASTRO, 2016).

Juntos, todos esses microrganismos (chamados coletivamente de microbiota) abrigam um repertório de genes que codificam proteínas que excede em muito o pool genético encontrado em nosso genoma humano. Há mais de um século, os pesquisadores vêm tentando entender o papel da microbiota intestinal para o nosso bem-estar. Nas últimas décadas, evidências crescentes revelaram que a microbiota intestinal possui um enorme potencial para interagir e interferir com o hospedeiro, tanto de maneiras positivas quanto negativas. A relação entre o hospedeiro e a microbiota intestinal é simbiótica e as interações mutualísticas incluem a degradação microbiana de compostos não digeríveis que chegam ao intestino grosso. Além disso, os produtos dos processos de fermentação microbiana contribuem com até dez por cento da absorção de energia do hospedeiro (MACFARLANE; MACFARLANE, 2007). A microbiota intestinal tem um papel significativo na saúde humana. Mudanças na composição da microbiota intestinal foram observadas em relação a vários fatores gastrointestinais (GI) (CARROLL; RINGELKULKA; KEKU; CHANG *et al.*, 2011; FRANK; ROBERTSON; HAMM; KPADEH *et al.*, 2011; MALINEN; RINTTILÄ; KAJANDER; MÄTTÖ *et al.*, 2005) e doenças não GI (LEY; TURNBAUGH; KLEIN; GORDON, 2006; VAEL; DESAGER, 2009) em crianças e adultos. As bactérias que integram o trato gastrointestinal são em sua maioria anaeróbicas, destacando-se os gêneros bacteroides, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*,

Clostridium, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus* e *Fusobacterium* (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

Muitos alimentos fermentados e iogurte em particular, contêm grandes quantidades de bactérias vivas, normalmente até 10⁹ UFC/g. Esses alimentos têm contribuído significativamente para a dieta humana desde o Neolítico (SREEJA; PRAJAPATI, 2013), embora nossa compreensão moderna do impacto das bactérias ingeridas por alimentos em nosso microbioma intestinal residente permaneça limitada. Até o momento, a maioria dos estudos não conseguiu identificar modulações significativas da microbiota intestinal humana residente sobre o consumo de alimentos fermentados. Na infância a alimentação exclusiva com leite humano é amplamente recomendada como a primeira escolha para a nutrição infantil. O leite humano fornece não apenas uma nutrição ideal, mas também componentes bioativos que são importantes para otimizar a colonização microbiana intestinal, a maturação imunológica, o desenvolvimento metabólico e até mesmo o desenvolvimento cognitivo. É reconhecido que os efeitos benéficos do leite humano podem, por exemplo, reduzir o risco de diarreia infecciosa e otite média aguda em crianças (AGOSTONI; BRAEGGER; DECSI; KOLACEK *et al.*, 2009). Um detalhe curioso sobre o Ph do leite é que se a vaca estiver com uma infecção por mastite, o Ph do leite pode ser alterado se tornando mais ácido (Ogola *et al.*, 2007).

Os leites de vaca comercializados na grande maioria dos mercados, padarias e supermercados do país são, tradicionalmente, de dois tipos: Os leites UHT (ultra high temperature), que passam por um processo de superaquecimento para eliminar sua carga bacteriana. São envasados em caixinhas. Também são chamados de leite longa vida; e os leites pasteurizados, que podem ser classificados com as letras A, B e C. Ela tem relação com o tipo de ordenha e concentração de microrganismos que ele pode conter em sua composição.

No leite uma de suas principais e não a mais importante razão de ser um alimento altamente nutritivo são suas propriedades, que no geral englobam muitos nutrientes como, cálcio, carboidratos, lipídeos, proteínas, peptídeos bioativos, vitaminas e minerais (Haug *et al.*, 2007). Além de e imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento dentro outros fatores que contribui demais para a saúde humana e (Brito *et al.*, s/d; Pereira, 2014).

Em média, o leite de vaca possui 87% de água e 13% de componentes sólidos, divididos entre cerca de 4% a 5% de carboidratos, 3% de proteínas, 3% a 4% de lipídios,

0,8% de minerais e 0,1% de vitaminas (Haug et al., 2007). Sendo considerada uma das principais formas de obtenção de cálcio pelo ser humano (FAO, 2013). Nas últimas décadas notou-se um aumento considerável no consumo de leite no Brasil em (36%) (Levy-Costa et al., 2005) sendo um dos principais fatores desse aumento a diversificação dos tipos de leite, o aumento da renda familiar brasileira e do grau de escolaridade da população 2008-2009 (POF).

No leite temos os carboidratos sendo o principal a lactose, esse carboidrato contribui para o aumento da absorção intestinal de fósforo, cálcio e magnésio presentes no leite. Esses micronutrientes são importantes no que diz respeito ao metabolismo ósseo (Hunt et al., 2009; FAO, 2013). Um leite de má qualidade é favorável ao crescimento e aumento de microrganismos que, por sua vez, degrada o açúcar do leite (lactose), transformando-o em ácido láctico e fazendo com que haja uma elevação na acidez tornando a absorção do cálcio inviável (Artigo Produção alimentícia – análise físico-químicas dos alimentos).

Outra propriedade presente no leite são os lipídeos, que no caso é o valor gorduroso sendo 4% da composição dos componentes sólidos do leite (Haug et al., 2007). Sendo função dos lipídios presentes no leite a de carrear vitaminas lipossolúveis. A fração lipídica do leite é composta principalmente por triacilgliceróis (98%), de diacilglicerol (2%), colesterol (< 0,5%), fosfolipídios (~1%) e ácidos graxos livres (0,1%). Dentre os ácidos graxos presentes no leite, 70% são saturados sendo os outros 30% insaturados com maior representatividade de ácido oleico, linoleico e α -linolênico (Mansson, 2008; FAO, 2013). O leite de vaca possui naturalmente pequenas quantidades de gorduras trans, vindas de processos metabólicos do animal. Dentre estas, destaca-se o ácido linoleico conjugado (CLA), que vem sendo associado a benefícios à saúde, melhorando a condição cardiovascular, do sistema imunológico, além de alguns outros ganhos para a saúde como citado por Benjamin e Spener, 2009. O leite de vaca é considerado uma importante fonte de proteína para a alimentação humana USDA, 2011; Pereira, 2014). Seu teor significativo de proteínas é de alto valor biológico, tendo vários dos aminoácidos essenciais em quantidade adequada, para suprir as necessidades biológicas humanas, além de ajudar na digestão (FAO, 2013), estando presente em 3% dos componentes sólidos do leite de vaca (Haug et al., 2007). Vale destacar que no Protein Digestibility – Corrected Amino Acid Score (PDCAAS), indicador estabelecido pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura e pela Organização Mundial da Saúde (FAO/ WHO) para atestar a qualidade proteica, indica que as proteínas contidas no leite apresentam grau máximo de qualidade (= 1) portando sendo de um valor

nutricional excelente (FAO/WHO, 1991; Boye et al., 2012). Sendo associada a melhora nas atividades imunomodulatórias, antiviral, antibacteriana, antifúngica, antioxidantes, antihipertensivas, antitrombóticas e opióide, além de ajudar na absorção de outros nutrientes como vitaminas e minerais, sendo ótimo para a saúde (Mills et al., 2011; Souza et al., 2012).

Levando em consideração a importância do leite para a nutrição e colonização por microorganismos do intestino de seres humanos, o objetivo deste trabalho foi investigar a carga microbiana dos diferentes tipos de leite e estudar a interferência destes na saúde humana e sua relação com a microbiota intestinal.

MATERIAIS E MÉTODOS

a. Seleção das amostras de leite e análises físico-químicas e biológicas.

Serão escolhidas 2 amostras de leites de pelo menos 3 lotes diferentes de uma mesma marca para os leites dos tipos A, B, C e UHT para serem analisados os seguintes parâmetros físico-químicos: densidade, potencial de hidrogênio, acidez titulável, quantificação de proteínas e análise microbiológica.

b. Acidez titulável

A acidez titulável das amostras de leite será determinada em graus Dornic, seguindo-se a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985). Para o procedimento, será transferido 10 ml de amostra para um balão de Erlenmeyer de 100 ml. Na sequência, será adicionada 3 gotas de solução de fenolftaleína 1% e a amostra será titulada com solução de hidróxido de sódio 0,0957 mol/L padronizada até o ponto de viragem. A acidez titulável será expressa em graus Dornic que se refere a porcentagem de ácido láctico. Segundo a legislação brasileira, Instrução Normativa nº 51 de 18/09/2002, a cada 0,1 ml da solução de NaOH 0,1 mol/L gasto no procedimento corresponde a 1 °D ou 0,1 g de ácido láctico/L.

c. pH

Para determinação do potencial hidrogeniônico do leite, será utilizado um pHmetro da marca MS Tecnopon modelo mPA 210, calibrado com tampão 4,0 e 7,0, com as amostras de leite em temperatura ambiente.

d. Densidade

As densidades das amostras de leite serão determinadas com o auxílio de um densímetro (1000 g/mL - 1500 g/mL), introduzido em uma proveta de capacidade para

250 mL preenchida com a amostra a ser analisada em temperatura ambiente. A temperatura das amostras será medida no momento da determinação da densidade com o auxílio de um termômetro.

e. Adulteração por amido

O Iodo foi utilizado para identificação de carboidratos em monossacarídeos (amido), sendo um sinal de adulteração quando ocorre a reação do iodo com o amido, resultando na mudança de cor (o branco se transforma em azul). O procedimento foi feito utilizando beakers de 100 ml para cada tipo de leite e foi adicionado três gotas de iodo, homogeneizados e depois analisado se houve ou não modificação da cor.

f. Termo estabilidade

A Termo estabilidade do leite foi feito utilizando 3 ml de álcool 70% e 3 ml de cada tipo de leite (colocados em tubos de ensaio) e homogeneizados utilizando um palito esterilizado, sendo depois colocados em placas de petri. Procedimento feito três vezes para cada tipo de leite para confirmação de análise.

g. Urinálise

A urinálise é responsável por examinar a função renal do paciente, sendo não invasivo e capaz de identificar diversas patologias, monitorar determinados progressos de doenças ou até acompanhar tratamentos e possíveis curas. Tal exame é dividido em três partes, a primeira é caracterizada por analisar a cor, cheiro, aspecto e volume da urina. A segunda parte é a pesquisa química na urina através do uso de fitas reativas e por último, a sedimentoscopia, sendo uma análise microscópica da urina (VARGAS.2022).

h. Urocultura

A cultura de urina ou urocultura é um exame laboratorial que possui a função de identificar a presença de bactérias nas vias urinárias, pois normalmente os rins e a bexiga são órgãos estéreis, então tal análise é responsável por diagnosticar ITU's (Infecções do Trato Urinário). O resultado torna-se negativo, quando, após 48-72 horas não é identificado a presença de Unidades Formadoras de Colônias de bactérias, ou UFC. Porém, tornam-se positivas quando o número é de ≥ 10.000 UFC (os parâmetros atuais são de 10.000-100.000 UFC, associado a outras análises laboratoriais, como urinálise e leucograma). O único problema é a identificação de ≤ 10.000 UFC, pois sugere a contaminação da amostra.

i. Leucograma

O Leucograma foi realizado para avaliar quantitativamente e qualitativamente os glóbulos brancos presentes na corrente sanguínea do indivíduo. O sangue foi coletado em tudo EDTA e

posteriormente uma gota foi utilizada para a realização do esfregaço em lâmina de vidro. A lâmina com o esfregaço de sangue foi corada utilizando o kit *Panótico* e analisada em microscópio ótico de luz, onde as células brancas tiveram sua morfologia analisada e também foram contadas 100 células de cada amostra.

j. Análise estatística

Os dados estão expressos como média e desvio padrão. A análise da diferença entre os grupos será estimada através da análise de variância (ANOVA), seguida do post-hoc de comparações múltiplas Bonferroni, utilizando GraphPad Prism 5 computador software (GraphPad, San Diego, CA). As diferenças serão consideradas estatisticamente significantes para $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante a análise dos leites UHT, A e C, foram utilizadas oito metodologias, onde foi utilizado o condutivímetro, um equipamento que avalia a condutância e temperatura. Seu funcionamento se resume em uma sonda que é posta dentro do líquido para análise, o medidor aplica uma tensão entre os dois eletrodos (dentro da sonda), onde a resistência elétrica da solução causa uma queda de voltagem, sendo lida pelo condutivímetro. Vale ressaltar que o equipamento condutivímetro fornecido possuía falha na leitura por conta da falta de calibração (sem substâncias para realizar tal ação) e mal contato no fio. Para análise foram utilizados três beakers de 50 ml, onde o líquido obtinha resultados diferentes, por ter sido pipetado três vezes a parte do topo, três a parte do fundo e três homogeneizadas. As análises pelo condutivímetro demonstraram que a média para o leite tipo A é de 45 mS/cm, o leite tipo C 46 mS/cm, o leite tipo UHT integral 47mS/cm e o leite UHT desnatado 60 mS/cm (Figura 1).

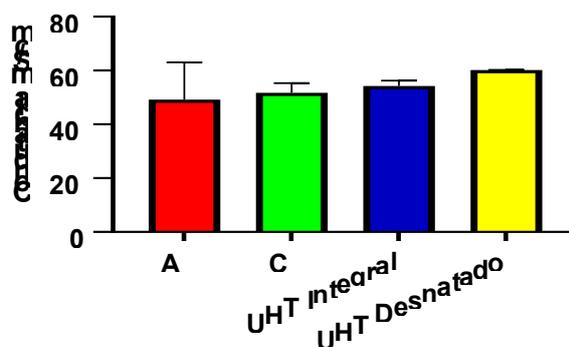


Figura 1 CONDUTÂNCIA AMOSTRAS HOMOGÊNEAS

O termômetro foi utilizado para obter a temperatura ideal para as análises dos leites, por ter uma melhor precisão, pois na medida em que se aquece o líquido analisado, o mercúrio presente no termômetro se expande ao longo do tubo, mostrando então, a temperatura em questão, onde os leites tiveram uma média de temperatura de 19°C á 20°C (Figura 2).

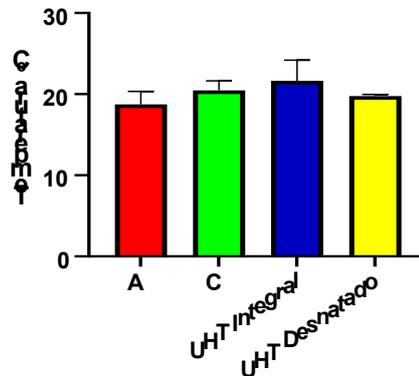


Figura 2 MÉDIA DAS TEMPERATURAS DOS LEITES PASTEURIZADOS (A e C) E DOS LEITES UHT (INTEGRAL E DESNATADO)

O densímetro foi usado justamente para medir a densidade de cada tipo de leite, sobre a temperatura ideal de 20° onde tal equipamento utiliza a massa dividida pelo volume do líquido para indicar a sua densidade (escala). Para a análise foi utilizado uma proveta de 250ml, diversificados através dos lotes.

Tal análise é importante para identificar uma possível adulteração no leite com adição de água, que fica com a densidade baixa no valor de 1,034 (que indica tal adição) e acima de 1,028, indica a adição de outras substancias ou desnate do leite. A média para os leites analisados foi identificado no leite tipo A 1,026, o leite tipo C 1,027, o leite tipo UHT integral 1,028 e o leite UHT desnatado 1,032, estando nos parâmetros indicados para boa qualidade de leite sem a adição de componentes. (Figura 3)

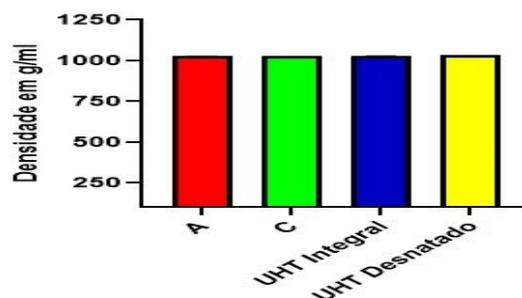


Figura 3 MÉDIA DAS DENSIDADES DOS LEITES PASTEURIZADOS E OS LEITES UHT

Para a titulação, primeiramente foi feito o cálculo molar para obter o valor de hidróxido de sódio (NaOH) em 1% de fenolftaleína. O experimento com fenolftaleína tem o intuito de identificar o equilíbrio químico, a utilizando como indicador de ácido-base.

Foram utilizados para a análise de titulação uma bureta com o titulante (NaOH) e um erlenmeyer de 250ml com o titulado (leite) e três gotas de fenolftaleína 1%.

Exemplos:



Figura 4 A- TITULAÇÃO LEITE TIPO A; B- TITULAÇÃO LEITE TIPO UHT; FIGURA C- TITULAÇÃO LEITE TIPO C

A análise de titulação demonstrou que a média para o leite tipo A 22,5°D, para leite tipo C 22°D, para o leite tipo UHT integral 23,5°D e para o leite UHT desnatado 21,5°D, estando acima do ideal por conta de erro no protocolo, onde foi utilizado 200mL de leite para a titulação ao invés de 10mL (Figura 5).

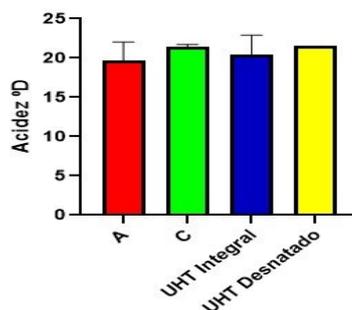


Figura 5 MÉDIA DA TITULAÇÃO DOS LEITES PASTEURIZADOS E UHT

O phmetro é um equipamento que faz a medição do potencial de hidrogeniônico (ph) onde indica a sua acidez, neutralidade ou alcalinidade através da imersão do seu eletrodo na amostra. Como no condutivímetro, fora coletado os leites através do uso de pipetas e despejo em três beakers de 50 ml, fazendo a medição da parte do topo, a parte do fundo

e a parte homenageada. A mensuração do pH demonstrou que as amostras dos leites tipo A teve média de ph 6,8, C ph 7 e UHT integral ph de 6,9 e o UHT desnatado ph de 7. Nos leites pasteurizados, de acordo com os limites estabelecidos pela ANVISA, estes devem sempre ser armazenados sob 4°C e a partir do momento em que ganha uma temperatura acima da indicada está sujeito a multiplicação de bactérias (por conta que seu método elimina apenas as bactérias patogênicas, deixando as benéficas, como os lactobacilos vivos). Como os leites pasteurizados foram aquecidos no banho Maria a 40° C, isto explica os parâmetros altos de ph.

Já os leites UHT apenas o integral apresenta estar de acordo com os valores indicados porem apenas o leite UHT desnatado apresenta valor acima do ideal, tendo então suspeita de más qualidades de higiene na produção.

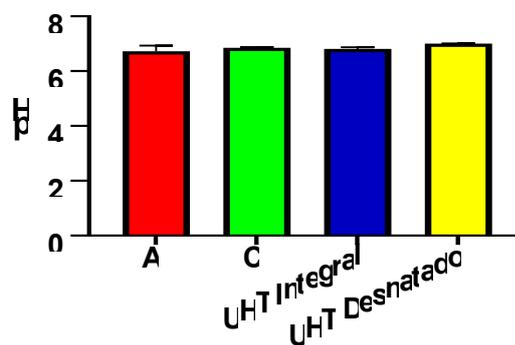


Figura 6 MÉDIA DO PH DAS AMOSTRAS DOS LEITES PASTEURIZADOS E UHT

Foi feito um experimento para identificar adulterações nos leites, onde para teste, foram utilizados os leites vencidos (guardados no freezer).

Foi usado o elemento químico Iodo, que tem a função de identificar a presença de carboidratos em monossacarídeos no leite, sendo um sinal de adulteração, porém, todas as amostras dos oito leites (um tipo C, quatro tipo A e dois tipo UHT) deram negativo. O processo se resume a colocar 100 ml de cada tipo de leite e adicionar três gotas de Iodo, homogeneizando e depois analisando se houve ou não modificação na cor (quando é identificado a presença de amido, ocorre a reação com o Iodo, onde troca de coloração para azul).

A análise dos leites após inserção do Iodo demonstrou que na figura A é identificado a reação do iodo com o amido nas duas amostras de grãos, postas na placa de vidro de petri, ficando com a tonalidade preta-azulada, porém, na amostra com a água, também na placa de vidro de petri, não ocorre tal reação, pois a água não contém amido. O mesmo

vale para as amostras de leite dos tipos A, C e UHT, onde não ocorreu tal reação, comprovando que não houve adulteração nos produtos.

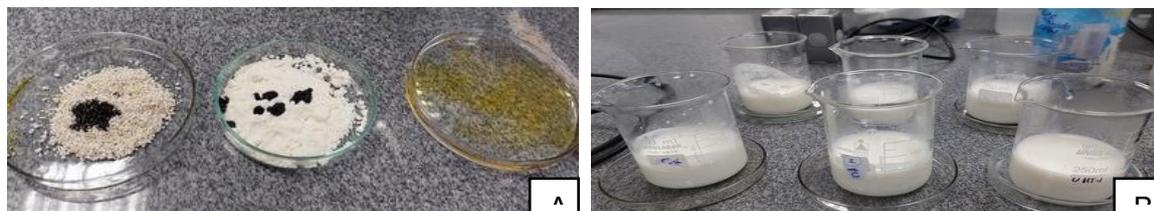


Figura 7A-IDENTIFICACAO DE AMIDO UTILIZANDO LUGOL/IODOB- RESULTADO NEGATIVO PARA ADULTERAÇÃO DAS AMOSTRAS ANALISADAS

Por fim, foi feito a análise da termo estabilidade do leite, este experimento busca identificar a resistência do leite sob tratamento térmico industrial sem sofrer coagulação (formação de grânulos), onde fora utilizado 3ml de álcool 70% e 3 ml de cada tipo de leite, medidos três vezes para confirmação de resultados, onde apenas dois tipos de leite A foram identificados grânulos, os do lote LI24048M13 (validade dia 12/09/21) e LI2523PS7 (validade dia 23/09/2021), isto ocorreu por conta que os leites tipo A foram armazenados a mais tempo, que pode-se concluir que ajudou com a proliferação de bactérias (Figura 6). Vale ressaltar que a acidez do leite pode diminuir (ácido láctico) devido a ação do tratamento térmico e esta diminuição causa a coagulação, rico em microrganismos (que causam fermentação e aumentam a acidez do leite, o que gera na diminuição do ácido láctico).



Figura 8- PARÂMETROS DE GRANULAÇÃO (1° LEITE TIPO C, SEM COAGULAÇÃO; 2° LEITE TIPO A, LOTE LI240448M13, COM COAGULAÇÃO MODERADA; 3° LEITE TIPO A, LOTE LI2523PS7, ALTA COAGULAÇÃO)

Após as análises dos leites, foi iniciado as análises nos voluntários antes e após a ingestão do leite UHT. A primeira etapa da urinálise é a análise da cor, aspecto e odor da urina, onde apenas 20% dos voluntários apresentaram cor amarelo escura e odor forte da urina antes e após o consumo do leite UHT e os 80% dos voluntários não apresentaram anormalidades. A segunda etapa da urinálise é a química, onde foi utilizado as Tiras Reagentes, também conhecidas como dipstick, onde possui vários quadradinhos coloridos com compostos que ocasionalmente reagem com determinados elementos na urina, que é comparado (as cores) em uma tabela de referência fornecida pelo produtor das fitas EAS, tal etapa consiste em mergulhar uma tira reagente na urina e esperar o tempo indicado pelo fabricante para se notar os resultados, seguindo os protocolos de biossegurança.

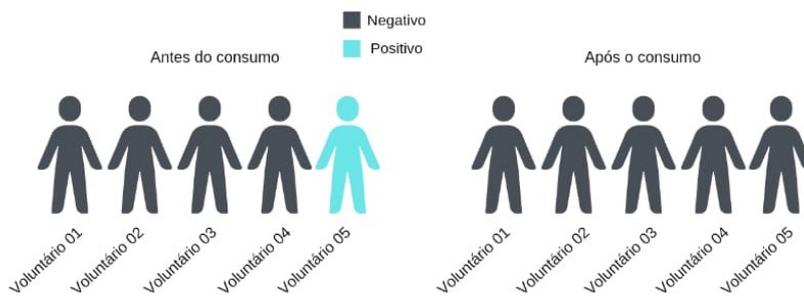


Figura 9 LEUCÓCITOS PRESENTES NA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DO LEITE UHT

Os leucócitos são células do sistema imune responsável pela defesa do organismo. Durante a pesquisa identificamos um voluntário com presença de leucócitos através da urinalise (fita reativa) antes da ingestão de leite tipo UHT este número pode ser elevado por alguma doença do trato urogenital ou doenças renais sendo associadas com maior frequência a bactérias presentes nesses ambientes, podendo desencadear uma infecção. A fita reativa é um dos métodos mais confiáveis de se investigar a presença de leucocituria, indicando a presença destas células de defesa supõe-se que exista algum trauma ou presença de bactérias.

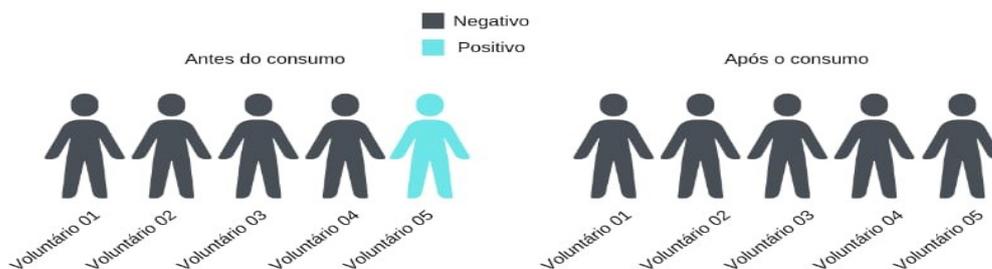


Figura 10 NITRITO PRESENTE ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

Na análise do nitrito fora observado a sua presença em 20% dos voluntários antes do consumo do leite UHT e após sua ingestão não foi identificado, concluindo que houve um indicativo e infecção bacteriana (pois nitrato se encontra presente na urina e quando metabolizado pelas bactérias gera nitrito).

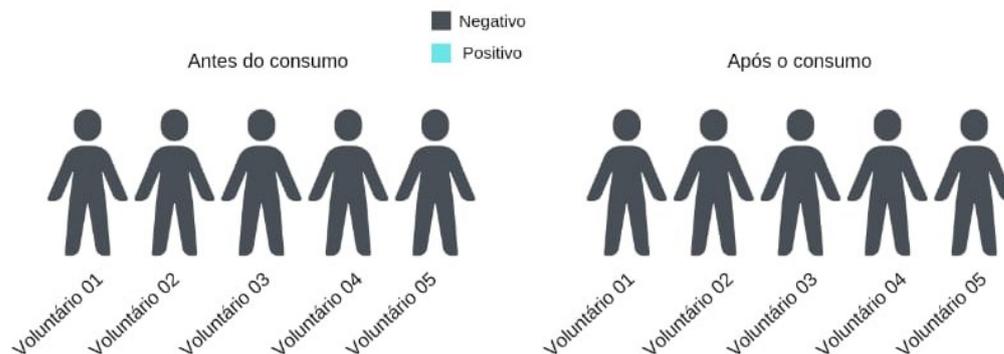
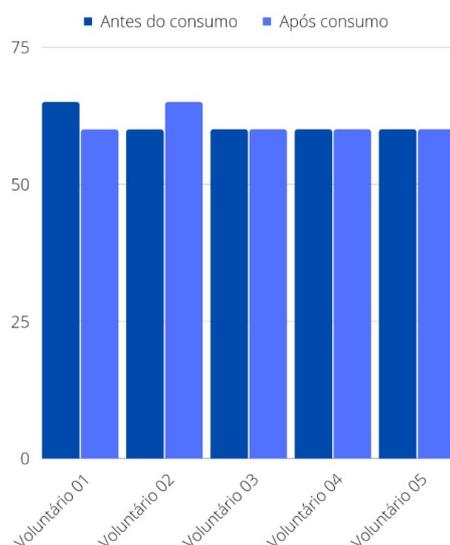


Figura 11 PROTEÍNA PRESENTE NA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT



As proteínas caracterizam possíveis danos aos glomérulos ou túbulos renais (HEMOLABB.2016) de origem infecciosa, por exemplo, porém, nas análises realizadas, a urina dos voluntários, antes e após o consumo, não apresentou a presença de proteína.

Figura 12 PH DA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

Com base no gráfico do potencial de hidrogênio (PH) da urina dos voluntários, a maioria apresentou a mesma porcentagem, onde cerca de 20% apresentaram PH 6,5 e cerca de 80% PH 6,0. Não identificando valores anormais, pois ambos se encontram dentro dos padrões de normalidade que costuma variar de PH 5,5- 7,0 (PINHEIROS.2022).

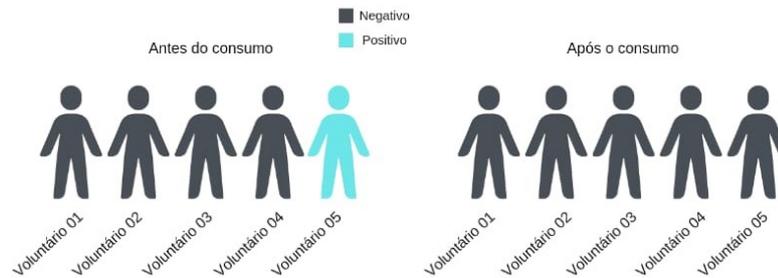


Figura 13 HEMÁCIAS PRESENTES NA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DO LEITE UHT

Nas análises foram identificados apenas 20% dos voluntários com presença de hemácias na urina antes do consumo do leite UHT, sendo suspenso o indicio de hematúria por conta sedimentoscopia realizada, onde não foi identificado a presença de hemácias de forma anormal, pois, vale ressaltar que existem falsos positivos onde nas mulheres pode ocorrer devido a mesma estar menstruada e o homem devido a presença de sémen na urina. (PINHEIROS.2022)

Sendo observado sua ausência após o consumo do leite UHT, não estando associado a patologias e sim a reavaliação do material em diferentes analises para então fechar um diagnóstico errôneo.

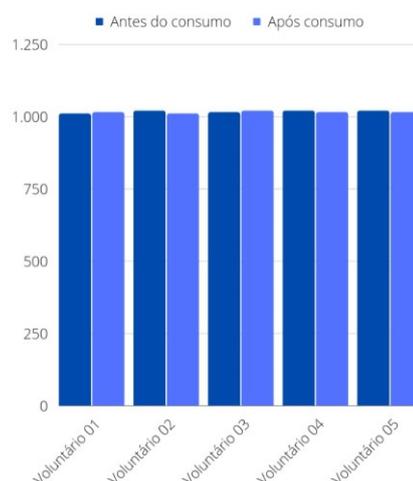


Figura 14 DENSIDADE DA URINA ANTES A APÓS O CONSUMO DO LEITE UHT

Analisando o gráfico da densidade da urina é visto que não houveram alterações significativas nos valores dos voluntários antes e após o consumo de leite UHT, onde os valores se encontraram entre 1010-1020, estando dentro dos parâmetros de normalidade, onde:

“(…) A densidade específica da urina é um substituto impreciso para a mensuração da osmolaridade urinária. Densidades específicas entre 1001 a 1035 correspondem um intervalo de 50 a 1000Osm/kg. Uma densidade próxima de 1010 é considerada normal.” (MEDICINANET.2017)

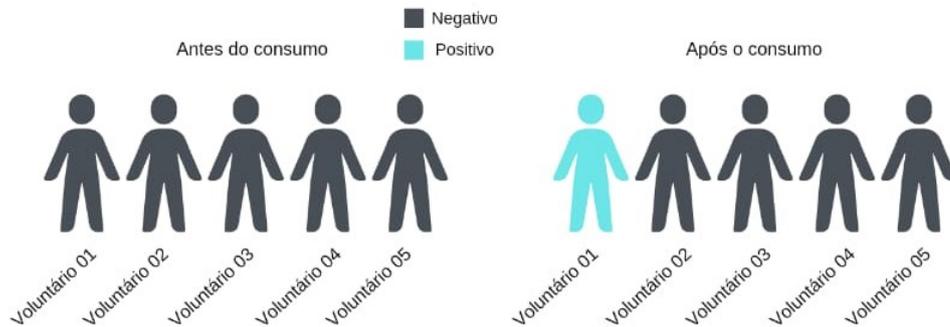


Figura 15 CETONAS PRESENTES NA URINA ANTES A APÓS O CONSUMO DO LEITE UHT

Os corpos cetônicos ou cetonas são produtos da metabolização da gordura, isto ocorre quando o organismo não possui glicose para gerar ATP (a moeda energética para o funcionamento da homeostase do organismo), as causas mais comuns são diabetes, jejum prolongado ou dietas rigorosas. Vale ressaltar que normalmente as cetonas estão presentes em baixa quantidade na urina e que alguns medicamentos como a vitamina C ou Levodopa podem causar falsos negativos.

Nas análises foi observado sua presença em 20% dos voluntários, porém, no caso, estaria mais associado a um jejum prolongado ao invés de algum malefício do leite, pois através de outras análises não foi constatado a presença de infecção (como nitrito ausente e sem quadro de neutrofilia).

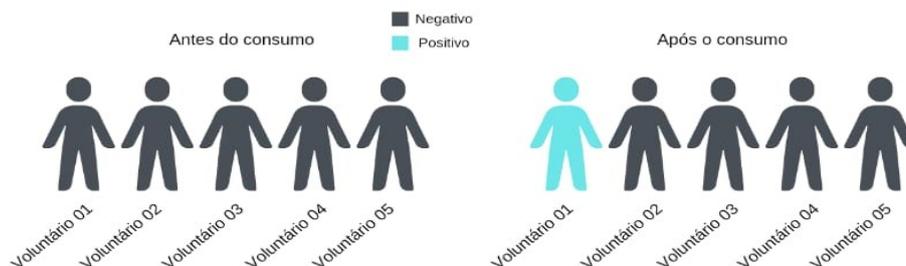


Figura 16 BILIRRUBINA PRESENTE NA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

A bilirrubina foi identificada antes e após a ingestão do leite UHT em cerca de 20% dos voluntários, o que indicaria um aumento na destruição de eritrócitos, juntamente com possíveis problemas no fígado.

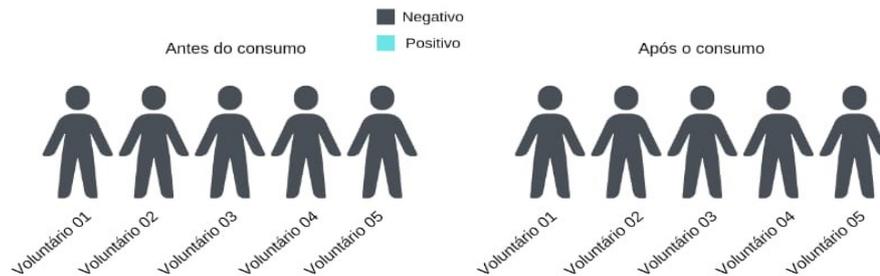


Figura 17 UROBILINOGÊNIO PRESENTE NA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

O urobilinogênio na urina pode ser encontrado, porém em pequenas quantidades e que não passe do padrão de 0,1 e 1,0 mg/ dL, este é um resíduo metabólico provocado pela quebra de bilirrubina. Na pesquisa, não identificamos nenhum voluntário através da urinalise (Fita reativa) com presença ou alteração de urobilinogênio. (NAKAMAE, et.al. 1980)

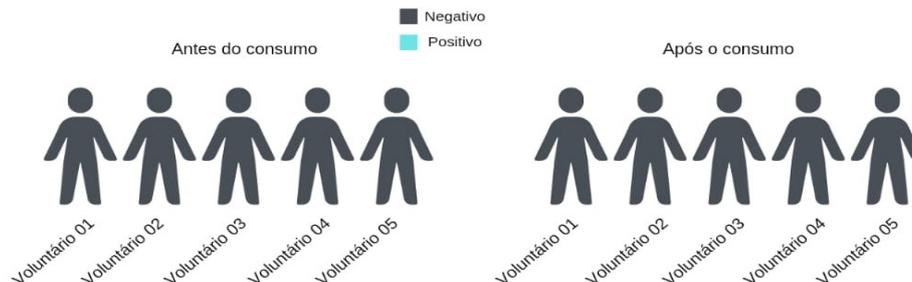


Figura 18 GLICOSE PRESENTE NA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

A glicose, quando presente sugere diabetes mellitus, pois é comum apresentarem a perda de glicose na urina e a mesma apresentar espuma e odor adocicado, por exemplo, não sendo o caso, pois nas análises antes e após o consumo de leite UHT, todas deram negativas.

Por fim, a terceira parte da urinalise foi a sedimentoscopia, que consistia em centrifugar a amostra em um tubo e pipetar o sedimento, pingando uma gota sobre a lâmina, em busca de elementos como cristais, hemácias ou até parasitas.

Nas análises realizadas, todas se encontraram dentro dos parâmetros de normalidade onde não houve a identificação de elementos anormais que pudessem sugerir algum quadro de ITU's, parasitose e etc.

O leucograma também foi realizado para quantificar e qualificar os leucócitos onde apresentaram os seguintes parâmetros:

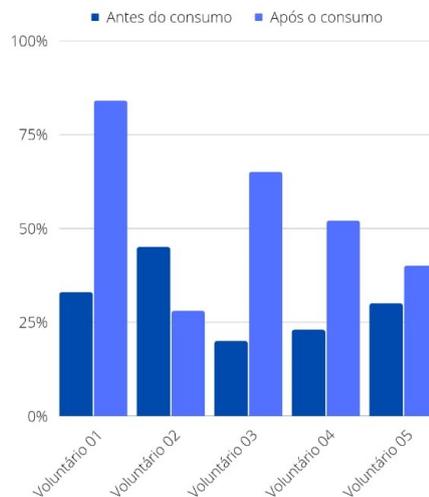
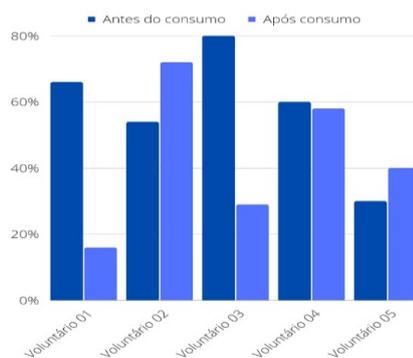


Figura 19 NEUTRÓFILOS PRESENTES NO SANGUE ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

Antes do consumo do leite UHT foram observados cerca de 45% de neutrófilos na análise microscópica, estando dentro dos parâmetros de normalidade (cerca de 60-70%) não indicando infecção. Porém, após a ingestão do leite foi observado um aumento na quantidade de neutrófilos circulantes, sendo observado em maior quantidade no voluntário 01, indicando uma infecção. O motivo deste aumento é variado, pois pode estar associado a mudanças climáticas que causaram baixa imunidade do indivíduo e por consequência a infecção, não estando totalmente associado ao consumo de leite



UHT.Figura 20 LINFÓCITOS PRESENTES SANGUE ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

O parâmetro de normalidade desta célula na corrente sanguínea é de 20-30% e as análises realizadas mostram um aumento significativo destes no leucograma, podendo ser causada por erros pré analíticos por conta da falta de jejum, por exemplo. Porém, estudos evidenciam que o consumo de leite está associado a alergias alimentares que se manifestam cerca de 8% através das vias respiratórias, como no caso a rinite.

“O leite possui uma grande quantidade de macromoléculas de proteínas que conseguem atravessar a mucosa intestinal, resultando em um desequilíbrio na flora intestinal (disbiose). Com isso, o organismo começa a combatê-las, por serem “organismos estranhos” e há maior formação de muco, piorando assim os sintomas da rinite. O consumo de leite em si não causa a alergia, mas pode aumentar a produção de muco, agravando problemas respiratórios já existentes, como sinusite, asma e rinite alérgica.”
(SALES.2020)

O aumento da quantidade de linfócitos pode estar associada, pois a rinite é causada através da reação de hipersensibilidade tipo I, onde inicialmente tem a exposição ao alérgeno, após ocorrer a apresentação do antígeno ou processamento do macrófago e ligar-se ao linfócito Th2. Tal ligação causa a liberação de citocinas e interleucinas, que estão associadas na diferenciação do linfócito B em plasmócitos, sendo então responsável pela síntese de IgE (onde ocorre sua ligação no mastócito, sensibilizando-o).
(SANAR.2020)

Porém, nada que proíba o indivíduo de consumir leite, pois os casos são pouco comparados aos benefícios que o consumo do leite ocasiona no indivíduo, como o fortalecimento da imunidade, complementação proteica, fonte de energia e fortalecimentos dos ossos, por exemplo. (EDITORIAL MDT.2022)

Por fim, a urocultura da urina foi realizada, mais conhecida por cultura de urina onde busca identificar a presença de UFC.

O procedimento inicialmente foi realizado preparando o ágar nutriente, utilizando água destilada e 5,76g de ágar para solubilizar e conseqüentemente despejar a substâncias em placas de petri estéreis para gelatinizar e estarem prontas para serem meios de cultura.

Após o processo, foi coletado a urina e feito uma diluição seriada da mesma, utilizando 9mL de Soro fisiológicos e 1mL de urina em quatro tubos estéreis.

Sempre próximos ao bico de Bunsen, foi feita a técnica de semeadura em meio solido, onde pega-se um Swab estéril, inserindo-o dentro da amostra e em seguida faz-se estrias sobre o meio.

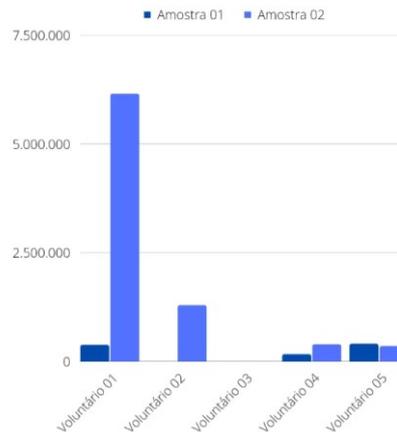


Figura 21 UROCULTURA DA URINA ANTES E APÓS O CONSUMO DE LEITE UHT

No gráfico todos os voluntários estavam dentro dos parâmetros determinados no período antes do leite. Para caracterizarmos uma infecção é necessário analisar a urocultura após o período de incubação de aproximadamente 48 a 72h.

É possível identificar um voluntário com bacteriúria no período após o leite, para identificar os resultados utilizamos a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) pela quantidade de diluição da amostra processada sendo 10^4 . (HEILBERG, et.al.2003) Caso a urocultura evidencie um valor acima desses parâmetros é considerado bacteriúria/infecção sendo necessário a investigação do agente etiológico para conduta terapêutica. (LOPES, et.al. 2005)

CONCLUSÃO

a. Densímetro

“Segundo a Legislação brasileira, os valores da densidade do leite devem variar entre 1,028-1,034 a 15°C , quando não for medida nessa temperatura devem ser feitas as correções. Esta correção é realizada uma vez que a temperatura estiver menor, maior será a densidade e vice-versa.” (MAPA/SDA/LGAL- Laboratório Nacional Agropecuário-LANAGRO/RS).

Portanto foi observado que todos os tipos de leite estão de acordo com a Legislação brasileira.

b. Condutivímetro

Nota-se valores acima da média indicada, pois vacas sadias (sem sintomas de mastite) a condutância varia entre 4-5 mS, porém, vale ressaltar que o equipamento condutivímetro utilizado possuía mal contato nas fiações (o que o fazia apresentar 90mS/cm em algumas amostras do leite tipo A, sendo que se mexesse no fio, o valor indicava 54mS/cm, uma diferença absurda), além da falta de materiais para a calibração do equipamento.

Conclui-se que é preciso refazer as análises, porém com o equipamento de acordo com a sua funcionalidade.

c. Phmetro

Começando pelas análises dos leites UHT integral e desnatado, onde normalmente devem possuir o PH de 6,2 a 6,69, como citado por Oliveira Nunes em 2005, sendo que apenas o leite UHT desnatado indica qualidade sanitária e estabilidade térmica duvidosa.

Por fim, os leites pasteurizados possuem média de PH 6,6 a 6,8, já os analisados demonstram que o do leite tipo A tem PH 6,9 e do leite tipo C PH 7, podendo não ser um indicativo de mastite ou más condições de higiene, pois em todos os experimentos (condutância e densímetro) os leites sofreram a ação do banho Maria sob 40°C, onde vale ressaltar que as temperaturas 24,0°C-28°C são consideradas acima do valor ideal para este tipo de leite, que deve sempre estar resfriado a 4°C (limite estabelecido pela ANVISA) pois podem causar a multiplicação de bactérias e diminuição do período do consumo, por serem facilmente perecíveis.

d. Termômetro

Em todos os tipos de leites analisados tiveram média de 19°C a 20°C por serem aquecidos em banho Maria a 40°C para os experimentos de densímetro e condutivímetro (que pediam mínimo de 20°C).

e. Titulação

Segundo os dados da Instrução Normativa nº 62 (IN 62), o leite é considerado normal se apresentar acidez entre 0,14% e 0,18% ou 14 °D a 18 °D (BRASIL, 2011). A média dos nossos resultados foram 22,3 °D do leite tipo A; 22 °D do leite tipo C; 23,5 °D do leite tipo UHT integral e 21,5 °D do leite UHT desnatado. Os resultados ficaram um

pouco acima dos valores normais da acidez, porém, desconfiamos dessa diferença pois esquentamos os leites em banho Maria para descongelar (leites ficaram guardados no freezer).

f. Espectrofotômetro

A apresentação do equipamento foi utilizando ágar nutriente através da diluição seriada. O intuito do experimento era montar a curva de padronização usando o ágar nutriente para depois utilizar as amostras de leite, porém, por conta de falhas técnicas, não ocorreu a finalização da análise utilizando as amostras de leite.

g. Adulteração por Amido

Antes do experimento foi feito um teste utilizando grãos que possuíam monossacarídeos (amido) que reagiriam com o iodo, obtendo uma coloração preta-azulada e em H₂O, onde não possui amido e não ocorre tal reação. Nas amostras dos nove tipos de leite (um tipo C; cinco tipo A, dois tipos UHT integral e um tipo UHT desnatado) onde não tiveram a reação com iodo, o que confirma que não houve adulteração por adição de amido em nenhum tipo de leite.

h. Termo Estabilidade

Foram realizados a fase teste com oito tipos de leite que estavam vencidos, onde apenas o leite tipo A de dois lotes (LI24048M13 e LI2523PS7) tiveram a formação de coágulo.

Em outras análises, utilizando dois lotes do UHT desnatado, ambos deram negativo e estavam com a validade em dia.

i. Leucócitos

Foram realizadas as análises nos voluntários, onde, antes do consumo do leite UHT foi identificado sua presença, sendo ocasionada por motivos alheio ao consumo. Por outro lado, após o consumo de leite UHT não foi identificado leucócitos na urina.

j. Nitrito

Foram realizadas as análises em cinco voluntários antes do consumo do leite UHT fora identificado a presença de nitrito em 20% dos voluntários, porém, após o consumo não foi identificado sua presença.

k. Proteína

Não foram identificados a sua presença na urina dos voluntários antes e após o consumo de leite UHT

l. pH

Antes e após o consumo foi observado que os parâmetros de PH se encontravam estáveis, entre PH 6,0-6,5, dentro da normalidade.

m. Hemácias

Nas análises, as hemácias foram identificadas sem 20% dos voluntários antes do consumo do leite UHT e após seu consumo não estavam presentes na urina dos voluntários.

n. Densidade

Durante as análises foi-se observado estabilidade na densidade da urina, antes após o consumo do leite UHT, estando entre 1010-1020, de acordo com os parâmetros de normalidade.

o. Cetonas

Os corpos cetônicos foram apenas observados após o consumo do leite UHT, porém, por não ter tido indícios de infecção, a sua presença fora associada à jejum prolongado, dietas rigorosas ou causas medicamentosas.

p. Bilirrubina

A sua presença foi detectada após o consumo do leite UHT, sendo associada a baixa hidratação do voluntário, por conta da cor e odor forte de sua urina, mas não se foi diagnosticado danos hepáticos por não haver outros elementos que resultassem em tal patologia, pois em outras análises como na sedimentoscopia, não foram identificados elementos anormais, como cristais, apenas apresentou-se normalidade.

q. Urobilinogênio

Durante as análises não foi identificado sua presença nem antes e após o consumo do leite UHT.

r. Glicose

Não foi identificado sua presença nem antes e após o consumo do leite UHT.

t. Sedimentoscopia

Durante as análises não foram identificados elementos anormais que indicassem patologias associadas ao trato urinário e afins.

u. Leucograma

Nas análises de sangue foram identificados linfócitos em maior quantidade, indicando possíveis erros pré-analíticos, como não seguir o tempo indicado de jejum antes das análises, pois sua quantidade antes do consumo do leite UHT estava entre 55-80% presente na corrente sanguínea e após o consumo de leite UHT foi visto cerca de 40-65% circulantes, estando fora dos parâmetros de normalidade.

Os neutrófilos por outro lado se encontraram na margem de normalidade, sendo identificado uma média de 45% circulantes antes do consumo do leite UHT e após o consumo do mesmo, estava presente em cerca de 55%, estando dentro dos parâmetros.

v. Urocultura

Nas culturas de urina foi observado normalidade, sem presença de infecção.

Referências

ALVES, Daniela R. The Role of UHT milk in the Growth of the Brazilian Milk Market. The Australian Journal of Dairy Technology, Australia, vol. 56, n.2, p.116, July 2001.

Benjamin S, Spener F. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. Nutr Metab. 2009; 6:36.

Boye J, Wijesinha-Bettoni R, Burlingame B. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. Br J Nutr. 2012; 108 (2 Suppl): S183-211.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, 30 dez. 2011.
CETONAS E CETOCIDOSE. FreestyleLibre, 2021. Disponível em: <https://www.freestyle.abbott/pt-pt/a-minha-diabetes/o-que-sao-as-cetonas--corpos-cetonicos--e-a-cetoacidoese.html> Acesso em: 20/07/2022

Colombeli, Adriana Scotti da Silva e Falkenberg, Miriam Comparação de bulas de duas marcas de tiras reagentes utilizadas no exame químico de urina. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [online]. 2006, v. 42, n. 2

FAO. Food and Agriculture Organization. Milk and dairy products in human nutrition. Rome; 2013.

FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva; 2003.

GIUDICI. Kelly. Quais as Diferenças Entre os Leites A, B, C e UHT?. NutS- Nutrition Science. 2017. Disponível em: <https://www.nutritionscience.com/singlepost/2017/07/26/leitesabc#:~:text=Quais%20as%20diferen%C3%A7as%20entre%20leites%20tipo%20A%20%20B%2C,leite%20C%20seria%20mais%20aguado%20%28ou%20mais%20%E2%80%9Cfraco%E2%80%9D%29>. Acesso em: 28/10/2021.

Haug A, Hostmark AT, Harstad OM. Bovine milk in human nutrition – a review. Lipids Health Dis. 2007;6: 1–16

Heilberg, Ita Pfeferman e Schor, Nestor Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário: ITU. Revista da Associação Médica Brasileira [online]. 2003, v. 49, n. 1

KANESIRO, M. A. B. Variação do grau de acidez e densidade em leite pasteurizado tipo “C”, fervido ou não, quando armazenado à temperatura de 7°C. Científica, Jaboticabal, v. 5, n. 2, p. 236-240, 1977

LEITE E O SISTEMA IMUNOLÓGICO. Nutrição Prática & Saudável, 2020. Disponível em: https://www-nutricaoopraticaesaudavel-com-br.cdn.ampproject.org/v/www-nutricaoopraticaesaudavel-com-br/nutricao-e-saude/leite-e-o-sistema-imunologico/amp/?amp_gsa=1&_js_v=a9&usqp=mq331AQKKAFQArABIIACAw%3D%3D#amp_tf=De%20%251%24s&aoh=16583412297189&referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.com&share=http%3A%2F%2Fwww-nutricaoopraticaesaudavel-com-br%2Fnutricao-e-saude%2Fleite-e-o-sistema-imunologico%2F Acesso em: 20/07/2022

Leite tipo A, B e C. Ciência do Leite. 2008. Disponível em: <https://cienciadoleite.com.br/noticia/98/leite-tipo-a-b-e-c>. Acesso em: 28/10/2021

Levy-Costa RB, Schieri R, Pontes NS, Monteiro CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). Rev Saúde Pública. 2005; 39: 4

LIMA, Fabiana Marquior¹ BRUNINI, Maria Amalia² MACIEL JÚNIOR, Vinicius Antonio³ MORANDIN, Carla de Souza ¹ RIBEIRO, Carolina Thomazini

Lopes, Hélio Vasconcellos e Tavares, Walter Diagnóstico das infecções do trato urinário. Revista da Associação Médica Brasileira [online]. 2005, v. 51, n. 6

LUQUET, F. M. Leche y productos lácteos. Acribia: Zaragoza, 1991. 390p

Mansson HL. Fatty acids in bovine milk fat. Food Nutr Res.2008;52: 10.3402/fnr.v52i0.1821.

MEIRELES, A. J. A DesRazão laticinista a indústria de laticínios no último quartel do século XX. São Paulo: Cultura Editores Associados , 1986. 268p.

Mills S, Ross RP, Hill C, Fitzgerald GF, Stanton C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. Int Dairy J. 2011; 21:377-401.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Instrução normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Disponível em: http://www.agais.com/normas/leite/leite_coletatransp.htm

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UAT (UHT). Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Disponível em: http://www.agais.com/normas/leite/leite_uat.htm

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipo A. Instrução normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.apcbrh.com.br/files/IN62.pdf>

Nakamae, D. D., Araújo, C. P. D., Miyadahira, A. M. K., Takahashi, E. I. U., Valente, M. A., Chiarello, M. D. L., ... & Kimura, M. (1980). Exame de urina: todo o rigor na colheita de amostras. Revista da Escola de Enfermagem da USP, 14, 51-57.

NETO, Rodrigo. Exame de urinálise . MedicinaNET, 2017. Disponível em : https://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/7259/exame_de_urianalise.htm#:~:text=A%20densidade%20espec%C3%ADfica%20da%20urina,de%201.010%20%C3%A9%20considerada%20normal. Acesso em: 20/07/2022.

NETO, Rodrigo. Linfocitose. MedicinaNET, 2017. Disponível em: https://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/7256/linfocitose.htm?_mobile=off Acesso em: 20/07/2022

Ogola, H., Shitandi, A., and Nanua, J., 2007. Effect of mastitis on raw milk composition quality. J. Vet. Sci. 8(3), 237-242

OLIVEIRA, M. M. A.; NUNES, I. F. Análise Microbiológico e físico-químico do leite pasteurizado "tipo C" comercializado em Teresina, PI. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v.17, n.111, p.92-94, 2003.

Pereira PC. Milk nutritional composition and its role in human health. Nutrition.2014; 30(6):619-27.

PINHEIRO, Rodrigo. Exame de Urinálise (EAS) – entenda os resultados, 2022. Disponível em: <https://www.mdsaude.com/exames-complementares/exame-de-urina/#pH>. Acesso em: 20/07/2022.

Portela, Benedito Yago Machado, et al. "PRESENÇA DE LEUCÓCITO-ESTERASE, LEUCOCITÚRIA E BACTERIÚRIA COMO INDICATIVO DE INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO EM MULHERES." Mostra Científica em Biomedicina 3.2 (2019).

PRATA, L. F. et al. Composição perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen). Região Sudeste, Brasil. Ciência e Tecnologia de Alimentos. v. 18, n. 4,

PRATA, L. F. Leite UHT: solução ou problema? Uma análise da situação. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 12, n. 54, p. 10-15, 1998 Campinas, Oct./Dec. 1998.

PRESENÇA DE PROTEÍNA NA URINA - O QUE PODE SER?. Hemolab, 2016. Disponível em: <https://www.hemolabrr.com.br/post/presenca-de-proteina-na-urina-o-que-pode-ser#:~:text=A%20presen%C3%A7a%20de%20prote%C3%ADna%20na%20urina%20pode%20acontecer%20quando%20acontece,e%20leuc%C3%B3citos%20na%20nossa%20urina.> Acesso em: 20/07/2022

SAIBA A IMPORTANCIA A URINÁLISE. Julio Vargas, 2022. Disponível em: <https://labjuliovargas.com.br/saiba-importancia-da-urinalise/>. Acesso em: 20/07/2022

Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia 2009-2014. Pocket Book, 2014. Disponível em: http://publicacoes.cardiol.br/2014/img/pockets/Pocket_Book_2014_Interativa.pdf

Souza GT, Lira FS, Rosa JC, de Oliveira EP, Oyama LM, Santos RV, Pimentel GD. Dietary whey protein lessens several risks factors for metabolic diseases: a review. Lipids Health Dis. 2012;11:67.

SPRESER, E. Lactologia Industrial. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1991. p.51.

US Department of Agriculture (USDA) and US Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans, 2010. [internet]. [acesso em 10 de Agosto de 2015]. 7th Edition, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, December; 2010. Disponível em: <http://health.gov/dietaryguidelines/2010/>

US Department of Agriculture – USDA. National Nutrient Database for Standard Reference [internet]. [Acesso 22 de Agosto de 2015]. Disponível em: <http://ndb.nal.usda.gov/>.

WHO - World Health Organization. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: report of the Joint WHO/

WHO - World Health Organization. FAO/WHO/UN. Protein Quality Evaluation. Report of the joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper 51. Rome: FAO; 1991.