

ARTÍCULOS ORIGINALES

CONTENIDO DE VITAMINA A EN LECHE MATERNA MADURA DESPUÉS DE LA PASTEURIZACIÓN: REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DEL LACTANTE

Vitamin A Content in Mature Breast Milk after Pasteurization: Nutritional Requirements of the Infant

Natalia Matamoros,¹ Fernanda Santandreu,¹ Liliana Disalvo,¹ Ana Varea,¹ Enrique Martins,¹ Gustavo Sager,² Horacio F. González¹

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: La leche materna proveniente de los bancos de leche humana (BLH) es el mejor sustituto cuando la lactancia no es posible. Sin embargo, la pasteurización puede disminuir el contenido de vitamina A. OBJETIVO: Comparar el contenido de vitamina A en leche madura de BLH antes y después de la pasteurización, y analizar si la leche pasteurizada se adecua a los requerimientos nutricionales del lactante. MÉTODOS: Las muestras de leche fueron recogidas por las madres donantes. Se analizó la vitamina A por cromatografía líquida, y se calculó la media de concentración antes y después de la pasteurización. Se compararon los resultados según el test de Student. Se analizó la adecuación de la vitamina a los requerimientos nutricionales del lactante. RESULTADOS: Se analizaron 53 muestras de leche de madres donantes cuya edad promedio era de 31,3±4,4 años. La media del tiempo de lactancia fue de 91±59 días. La concentración media de vitamina A en leche antes y después de la pasteurización fue de 36,6±13,5 µg/dl y 30,5±12,8 µg/dl, respectivamente (p<0,001). Se observó una disminución media de concentración de 6,1 µg/dl (16,7%) de vitamina A luego de la pasteurización. El porcentaje de adecuación de la vitamina A en la leche pasteurizada fue del 59,6%. CONCLUSIONES: La disminución de vitamina A en leche madura de BLH luego de la pasteurización fue del 16,7%. La concentración de vitamina A hallada en la leche pasteurizada fue insuficiente para cubrir los requerimientos del lactante.

ABSTRACT. INTRODUCTION: Breast milk from human milk banks (HMB) is the best substitute when breastfeeding is not possible, although pasteurization may decrease vitamin A content. OBJECTIVE: To compare vitamin A content in mature milk from HMB before and after pasteurization, and to analyze whether pasteurized milk meets the infant nutritional requirements. METHODS: Milk samples were collected by donor mothers. Vitamin A was assessed by liquid chromatography, and mean concentration before and after pasteurization was calculated. Results were compared with Student's t-test. Vitamin A adequacy to the infant's nutritional requirements was analyzed. RESULTS: A total of 53 human milk samples from donor mothers were analyzed (average age: 31.3±4.4 years; mean breastfeeding duration: 91±59 days). Mean vitamin A concentration in milk before and after pasteurization was 36.6±13.5 µg/dl and 30.5±12.8 µg/dl, respectively (p<0.001). The mean decrease of vitamin A concentration after pasteurization was 6.1 µg/dl (16.7%). Vitamin A adequacy percentage in milk after pasteurization was 59.6%. CONCLUSIONS: Vitamin A decrease in mature milk from HMB after pasteurization was 16.7%. Vitamin A concentration in milk after pasteurization was not sufficient to meet the infant's needs.

PALABRAS CLAVE: Vitamina A - Leche humana - Bancos de leche

KEY WORDS: Vitamin A - Human milk - Milk banks

¹ Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas "Prof. Dr. Fernando E. Viteri", Hospital de Niños de La Plata, Provincia de Buenos Aires

² Unidad de Diagnóstico y Tratamiento, Servicio de Neonatología, Banco de Leche, Hospital Interzonal General de Agudos Gral. San Martín de La Plata, Provincia de Buenos Aires.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Beca "Carrillo-Oñativia", Comisión Nacional Salud Investiga, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina.

FECHA DE RECEPCIÓN: 6 de febrero de 2014

FECHA DE ACEPTACIÓN: 22 de agosto de 2014

CORRESPONDENCIA A: Natalia Matamoros
Correo electrónico: natmatamoros@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La lactancia materna es la única fuente de alimentación que suministra todos los nutrientes necesarios para el correcto desarrollo del niño en los primeros meses de vida. Así lo han reconocido tanto la Organización Mundial de la Salud como el Ministerio de Salud de la Nación, en consonancia con la Organización Panamericana de la Salud, la Sociedad Argentina de Pediatría y otras organizaciones vinculadas a la salud materno-infantil. Los beneficios de la lactancia natural van desde los aspectos nutricionales e inmunitarios hasta los psicológicos e intelectuales.¹⁻³

La leche humana contiene sustancias bioactivas, que protegen a los lactantes de procesos infecciosos, reducen la prevalencia y la severidad de enfermedades en edad temprana y previenen otras patologías de la edad adulta.⁴ La Academia Americana de Pediatría adhiere a la posición de que la alimentación con leche materna asegura los mejores resultados en salud, desarrollo y desenvolvimiento

psicosocial.⁵

La vitamina A y sus derivados son importantes en muchas funciones del organismo, incluidos el desarrollo y mantenimiento de la diferenciación normal de las células epiteliales, la respuesta inmunitaria, la hematopoyesis, el crecimiento y desarrollo osteomuscular, la fertilidad y la función normal de los fotorreceptores retinales.⁶

Las madres en período de lactancia y los lactantes son considerados grupos de riesgo para la deficiencia de vitamina A,⁷ especialmente en países en vías de desarrollo, y representan un problema de salud pública. Además, si el nivel de vitamina A en las madres es bajo, los niños son susceptibles de sufrir deficiencia subclínica a los 6 meses de edad aun en los casos de lactantes alimentados con leche materna.⁸ Aunque no se cuenta con estudios realizados en Argentina sobre la prevalencia de deficiencia de vitamina A en lactantes menores de 6 meses, una investigación llevada a cabo por el Instituto de Desarrollo de Investigaciones Pediátricas (IDIP) en 2003 en niños de 1-6 años provenientes de sectores de bajos recursos reveló que 1 de cada 3 presentaba deficiencia subclínica de vitamina A (retinol sérico inferior a 20 µg/dl).⁹ Por otro lado, la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud publicada en 2009 que abarcó todos los sectores socioeconómicos del país, mostró que en niños de 2-5 años la prevalencia de deficiencia subclínica era de 14,3%, con variaciones entre las diferentes regiones.¹⁰

La leche materna no tiene una composición estática, y sus constituyentes cambian durante el período de lactancia.¹¹ En el caso particular de la vitamina A, varios factores modulan su secreción en la leche humana, como la edad materna, el número de partos, la duración del embarazo, la ingesta de alimentos y el estado nutricional de la madre.¹² Dado que la vitamina A se encuentra en la fracción lipídica de la leche como retinil-éster, otro factor que influye en su concentración es el contenido de grasa de la leche, que varía con el grado de llenado y con el momento del día en que se vacía el pecho.¹³ Estas variaciones son una importante fuente de error en el muestreo. Por este motivo, los resultados de vitamina A suelen expresarse en referencia al contenido de grasa de la leche obtenido mediante el método de crematocrito.¹⁴

La concentración de vitamina A en madres bien nutridas depende de la etapa de lactancia: el calostro (leche materna hasta 5-7 días de lactancia) contiene en promedio 155 µg/100 ml; la leche transicional, 85 µg/100 ml; y la leche madura (a partir de los 15 días de establecida la lactancia), 58 µg/100 ml.¹⁵

Según el Consejo Nacional de Investigación de EE.UU.,¹⁶ el rango adecuado de niveles de vitamina A en leche de mujeres bien nutridas en EE.UU. y Europa es de 40-70 µg/100 ml.

El consumo diario de retinol recomendado para infantes durante los primeros seis meses de vida está basado en el Consumo Dietario de Referencia, y equivale a 400 µg de vitamina A/día¹⁷ y 420 µg de vitamina A/día para niños

prematuros según la recomendación de Segre.¹⁸

La leche materna proveniente de los bancos de leche humana (BLH) es una excelente alternativa nutricional para los bebés con parto de pretérmino, bajo peso al nacer, enfermedades infecciosas, diarrea o inmunodepresión, cuando la leche de su madre no está disponible.⁵

En Argentina, el primer BLH fue creado en 2007 en el Hospital Interzonal General de Agudos (HIGA) Gral. San Martín de la ciudad de La Plata. Actualmente en el país hay otros cuatro BLH, además del establecimiento mencionado, en el Hospital Materno Infantil Ramón Sardá (Ciudad Autónoma de Buenos Aires), el Hospital Ramón Perrando (Chaco), el Hospital Materno Neonatal (Córdoba) y el Hospital Lagomaggiore (Mendoza).¹⁹

Para prevenir la transmisión de patógenos virales y bacterianos, se requiere un proceso de pasteurización en la leche de banco. Sin embargo, este procesamiento puede tener efectos no deseados sobre la composición de la leche humana, ya que hay nutrientes sensibles a la acción de la temperatura, la presencia de oxígeno y la radiación ultravioleta.²⁰ La vitamina A es relativamente estable frente a la acción del calor, pero es susceptible a la presencia de oxígeno y a los rayos ultravioletas.²¹ También se ha observado que la conservación de la leche en biberones expuestos a la luz por apenas 20 minutos hace disminuir la concentración de vitamina A en casi un 10%.²²

El objetivo de este estudio consistió en conocer la cantidad de vitamina A existente en la leche madura antes y después de la pasteurización y en determinar si el aporte de vitamina A en la leche pasteurizada alcanza a cubrir las necesidades nutricionales del lactante.

MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico de corte transversal, donde se evaluaron muestras de leche de madres donantes reclutadas por el equipo del BLH del HIGA Gral. San Martín entre mayo de 2012 y marzo de 2013. Se incluyeron todas las madres que tenían una producción láctea apta para obtener la muestra sin afectar la donación, que cumplían los criterios de selección del BLH¹⁹, con edades comprendidas entre 20 y 35 años y a partir de los 15 días de establecida la lactancia. Se excluyeron de este trabajo las madres de bebés prematuros y/o de bajo peso al nacer.

El tamaño muestral se calculó para estimar el contenido medio de vitamina A en leche materna después de la pasteurización con un intervalo de confianza del 95%, utilizando información de trabajos previos.²³⁻²⁵

Las madres que aceptaron participar del estudio firmaron un consentimiento informado y contestaron una encuesta, que permitió recabar datos acerca de antecedentes obstétricos (número de partos, edad gestacional), peso del recién nacido, nivel educativo materno y tiempo de lactancia (días transcurridos desde el nacimiento del bebé hasta la recolección de la muestra de leche).

Las muestras de leche fueron recogidas por las madres donantes en sus domicilios de manera aséptica, en frascos

de polipropileno estériles, y se mantuvieron en congelador ($-4\text{ }^{\circ}\text{C}$) o freezer ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) hasta su transporte al BLH, donde fueron conservadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Las muestras se descongelaron gradualmente en un baño de agua y se colocaron en biberones de 170 ml debidamente identificados. De cada biberón, se tomó una alícuota (muestra pre) de 5 ml sin dejar cámara de aire para evitar la acción del oxígeno. Además, cada alícuota fue resguardada de la luz ultravioleta mediante papel aluminio y de la temperatura mediante la conservación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se pasteurizó la leche en los biberones mediante un calentamiento a $62,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Una vez finalizado este proceso, se tomó una segunda alícuota de cada biberón (muestra post) siguiendo los criterios de fraccionamiento y conservación antes mencionados.

Para la determinación de vitamina A en el Laboratorio de Toxicología Ambiental y Nutrición del IDIP, las muestras fueron descongeladas simultáneamente (pre/post) y analizadas de manera apareada. Se utilizó la técnica de Giuliano,²⁶ siguiendo las etapas de: saponificación con hidróxido de potasio, precipitación con etanol, extracción con hexano, evaporación con flujo de nitrógeno y resuspensión con metanol. El contenido de vitamina A en el extracto obtenido se determinó por cromatografía líquida ultrarrápida en un equipo Shimadzu Prominence, con detector de arreglo de diodos y columna cromatográfica Shim-Pack ODS II 3,0 mm x 75 mm (tamaño de partícula: 2,2 μm). La fase móvil usada fue metanol:agua (96:4) con un flujo de 0,7 ml/min. La identificación y cuantificación de vitamina A en las muestras se estableció por comparación con los tiempos de retención y áreas de un estándar de all-trans-retinol-SIGMA. La concentración del estándar de retinol fue confirmada por el coeficiente de extinción específico ($E1\% \text{ cm}=1.850$) en etanol a una longitud de onda de 325 nm.

El crematocrito de la leche se determinó por un micro-método basado en la centrifugación de la leche en capilares de 80 μl a 12.000 rpm durante 15 minutos, por duplicado.

El análisis estadístico de la información se realizó mediante el programa SPSS 18 para Windows. La concentración de retinol se expresó como media y desvío estándar en $\mu\text{g/dl}$ de leche y en $\mu\text{g/g}$ de grasa según el crematocrito.¹⁴ Los niveles de retinol antes y después de la pasteurización se compararon usando el test de Student para muestras apareadas.

Se analizó la adecuación a los requerimientos nutricionales de los lactantes según el Consumo Dietario de Referencia para niños nacidos a término (400 μg de retinol/día), considerando que la ingesta promedio durante los primeros seis meses de vida es de 0,78 l/día de leche materna.¹⁷

Las muestras de leche fueron agrupadas según el tiempo de lactancia (menor o igual a 90 días, o mayor a 90 días), considerando la mediana de distribución. Se compararon el contenido de retinol, el aporte medio y la adecuación mediante el test de Student para muestras apareadas.

En todos los casos se consideró diferencia significativa a una $p<0,05$.

El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Revisión de Protocolos de Investigación del IDIP.

RESULTADOS

Se recogieron 53 muestras de leche humana madura obtenidas de madres donantes, cuya edad promedio era de $31,3\pm 4,4$ años. Con respecto al nivel de instrucción alcanzado, todas las madres tenían el primario completo, el 79,5% habían terminado el secundario y el 54,5% eran universitarias. En cuanto a los antecedentes obstétricos el 43% de las mamás eran primerizas, con un promedio de semanas de gestación de $38,1\pm 3,3$ y un promedio de peso al nacer de los bebés de 3.225 ± 744 gramos.

Todas las muestras fueron tomadas después de 15 días de lactancia (leche madura), con un tiempo medio de 91 ± 59 días. La media del crematocrito de las leches analizadas fue de $5,0\pm 1,2\%$, que se correspondió con una media de grasa de $4,5\pm 1,3$ g/dl.

La diferencia de medias de retinol antes y después de la pasteurización fue estadísticamente significativa, con un valor de 6,1 $\mu\text{g/dl}$, equivalente a un porcentaje de pérdida de 16,7%.

Tanto el aporte medio como la adecuación a los requerimientos del lactante disminuyeron significativamente luego del proceso de pasteurización (Tabla 1).

En la tabla 2 se presentan el contenido de retinol, el aporte medio y la adecuación a los requerimientos del lactante de las leches pre y post pasteurización de acuerdo al tiempo de lactancia fuera menor o igual a 90 días o mayor a 90 días. Tanto antes como después de la pasteurización, la concentración de retinol, el aporte medio y la adecuación a los requerimientos fueron mayores en las leches de menor o igual a 90 días de lactancia.

TABLA 1. Concentración de retinol y adecuación a los requerimientos del lactante antes y después del proceso de pasteurización.

Tipo de leche	Retinol, $\mu\text{g/dl}$ X \pm DS	Retinol, $\mu\text{g/g}$ grasa X \pm DS	Aporte medio,* $\mu\text{g/día}$ X \pm DS	Adecuación, † %
Pre-pasteurizada	36,6 \pm 13,5	8,5 \pm 3,5	285,6 \pm 105,6	71,4
Post-pasteurizada	30,5 \pm 12,8	6,9 \pm 2,7	238,3 \pm 100,1	59,6
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

* Para el cálculo se consideró que el lactante de 0-6 meses toma 0,78 l/día de leche.

† Para el cálculo se consideró que los requerimientos del lactante de 0-6 meses son de 400 $\mu\text{g/día}$.

Fuente: elaboración propia

TABLA 2. Concentración de retinol, aporte medio y adecuación a los requerimientos del lactante antes y después de la pasteurización, según el tiempo de lactancia.

Tipo de leche	Pre-pasteurizada			Post-pasteurizada		
	≤ 90 días	> 90 días	p	≤ 90 días	> 90 días	p
Tiempo de lactancia						
Retinol, µg/dl X ± DS	42,2 ± 12,5	25,4 ± 8,9	< 0,001	35,8 ± 12,7	21,1 ± 8,2	< 0,001
Retinol, µg/g grasa X ± DS	9,6 ± 3,6	6,0 ± 1,5	< 0,001	8,0 ± 2,6	5,0 ± 1,1	< 0,001
Aporte, µg/día* X ± DS	329 ± 97	198 ± 69	< 0,001	280 ± 99	165 ± 64	< 0,001
Adecuación†, %	82,3	49,5	< 0,001	69,8	41,2	< 0,001

* Para el cálculo se consideró que el lactante de 0-6 meses toma 0,78 l/día de leche.

† Para el cálculo se consideró que los requerimientos del lactante de 0-6 meses son de 400 µg/día.

Fuente: elaboración propia

DISCUSIÓN

El contenido de vitamina A en la leche de BLH depende principalmente de dos factores: la composición de la leche donada y el efecto del procesamiento. En lo que respecta a la composición, el contenido de nutrientes depende del estado nutricional materno y está condicionado por variaciones circadianas. En el procesamiento inciden la toma y conservación de las muestras, los procesos de congelamiento y descongelamiento y la pasteurización propiamente dicha.

En el presente estudio se observó una reducción del 16,7% del contenido de vitamina A en la leche madura luego del proceso de pasteurización. Dentro de las variables capaces de afectar el contenido de vitamina A en leche, el diseño del estudio permitió controlar la acción del oxígeno, la luz ultravioleta y la temperatura. La única diferencia entre el grupo pre y post fue el mayor tiempo (duración de la pasteurización) que estuvo congelada la muestra pre. Durante este tiempo de aproximadamente dos horas, no se produjo una degradación de vitamina apreciable. De hecho, el congelamiento es el método utilizado por todos los BLH para conservar la leche y evitar pérdidas de valor nutritivo. Por ello, el porcentaje de pérdida de vitamina A hallado en el estudio debería atribuirse sustancialmente al proceso de pasteurización.

El porcentaje de pérdida observado fue inferior al hallado por otros autores. En una investigación realizada con leche humana donada al BLH de la Maternidad del Hospital Universitario de Río Grande del Norte, Brasil, la pérdida reportada fue del 34%;²⁴ en un estudio efectuado en el BLH de Manaos, Brasil, la pérdida fue del 32,5%.²⁵ Esta diferencia podría deberse a un mejor cuidado de la leche después del proceso de pasteurización, dado que en el presente estudio todas las muestras fueron resguardadas de la luz y congeladas a -20 °C inmediatamente. Por otro lado, el BLH del HIGA Gral. San Martín posee un equipamiento automático moderno, específico para pasteurizar leche humana.¹⁹

El valor medio de concentración de vitamina A hallado en leche de BLH después de la pasteurización fue de 30,5±12,8 µg/dl, nivel insuficiente para cubrir los requerimientos del lactante alimentado con leche de banco, sobre todo de aquellos con parto de pretérmino, ya que sus necesidades son mayores y su capacidad de ingesta es menor.¹⁸ El valor medio de retinol hallado en la leche

antes de la pasteurización (36,6±13,5 µg/dl) también resultó insuficiente.

El contenido de vitamina A hallado, tanto en la leche cruda como pasteurizada, fue inferior al valor mínimo del rango adecuado para la leche de mujeres bien nutridas según el Consejo Nacional de Investigación de EE.UU.¹⁶

Aunque numerosas investigaciones reportan los niveles de vitamina A en la leche humana, hay pocos trabajos publicados que evalúan el contenido en BLH y este es el primero que se realiza en Argentina. El valor hallado en el presente estudio luego de la pasteurización fue comparable al encontrado en el BLH del Instituto Fernandes Figueira de Río de Janeiro, Brasil, donde la media de vitamina A de 60 madres dadoras fue de 34,6 µg/dl.²³

En Argentina, en un estudio realizado con muestras de leche de madres que asistían al Hospital Distrital de Forres de Santiago del Estero, el promedio de vitamina A fue de 62±31 µg/dl.²⁷ En dicho caso las muestras habían sido conservadas al abrigo de la luz inmediatamente después de su recolección, a diferencia de la presente investigación, donde la toma y conservación de muestras por parte de las madres donantes no pudo controlarse. Es posible que este factor haya influido en el bajo contenido de vitamina A hallado en la leche cruda.

Otra causa posible del bajo contenido de vitamina A hallado en la leche cruda podría ser un estado nutricional materno inadecuado,¹² aunque este aspecto no fue objeto del estudio.

Los niveles de vitamina A tienden a disminuir con el progreso de la lactancia.¹¹ Al categorizar los datos según el tiempo de lactancia, se observó que las leches de menor o igual a 90 días contenían mayor concentración de vitamina A y eran las que mejor se adecuaban a los requerimientos del lactante. La presente investigación revela la importancia de clasificar la leche donada según el estadio de lactancia cuando se suministra para la alimentación del bebé internado.

A pesar de que el contenido de vitamina A hallado en las muestras de leche pasteurizada resultó ser insuficiente para cubrir los requerimientos del lactante, la leche humana sigue siendo considerada la mayor fuente de nutrientes en la dieta de los infantes. Por ello, es importante promover el consumo de alimentos ricos en vitamina A en las mujeres embarazadas y en las madres dadoras. Asimismo, se sugiere optimizar las medidas de toma de muestras y conservación

de la leche para evitar pérdidas de este nutriente, que es particularmente sensible a la luz.

Cabe recalcar que los resultados obtenidos en leche humana madura no deberían extrapolarse a otros tipos de leche.

RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

El presente estudio es un aporte al conocimiento sobre la composición de la leche proveniente de BLH y sobre cómo el proceso de pasteurización puede incidir en la concentración de vitamina A. Partiendo de la premisa ampliamente aceptada de que la leche de BLH es el mejor sustituto de la leche materna, los resultados y conclusiones del trabajo son relevantes a la hora de tomar decisiones sobre estrategias de suplementación de lactantes alimentados con esta leche.

RELEVANCIA PARA LA FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN SALUD

El presente estudio contribuye a concientizar al equipo de salud de BLH sobre cómo inciden las prácticas de manipulación de la leche donada en la concentración

de nutrientes. Además, aporta evidencias para mejorar las instrucciones proporcionadas a las madres dadoras para evitar la pérdida de nutrientes durante la extracción y conservación de leche.

RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

Este trabajo mejora el conocimiento sobre el contenido de vitamina A en leche materna proveniente de BLH y puede promover investigaciones futuras, donde se incluyan otros nutrientes también importantes para el desarrollo del lactante. En Argentina, la investigación en Salud Pública sobre la deficiencia de vitamina A en mujeres embarazadas y madres en período de lactancia es un campo todavía incipiente en el que es necesario invertir para conocer la realidad de la población, ya que el estado nutricional materno condiciona la calidad de la leche.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del BLH del HIGA Gral. San Martín de La Plata, por su colaboración y ayuda en la obtención de las muestras. A las mamás donantes de leche, por su buena predisposición e interés en la investigación.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES: No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

Cómo citar este artículo: Matamoros N, Santandreu F, Disalvo L, Varea A, Martins E, Sager G, González HF. Contenido de vitamina A en leche materna madura después de la pasteurización: requerimientos nutricionales del lactante. Rev Argent Salud Pública. 2014; Jun;5(19):11-16.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ Organización Mundial de la Salud. 54ª Asamblea Mundial de la Salud. Estrategia mundial para la alimentación del lactante y del niño pequeño. Duración óptima de la lactancia materna exclusiva. A54/INF:DOC./4. Mayo de 2001.

² Ministerio de Salud de la Nación, Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Situación de la lactancia materna en Argentina. 2011.

³ Sociedad Argentina de Pediatría, Comité de Nutrición. Guía de alimentación para niños sanos de 0 a 2 años, 1ª ed. Buenos Aires: Ediciones SAP; 2001.

⁴ Hamosh M. Protective Functions of Proteins and Lipids in Human Milk. Biol Neonate. 1998;74:163-76.

⁵ American Academy of Pediatrics, Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the Use of Human Milk. Pediatrics. 2005;115:496-506.

⁶ West K. Dietary Vitamin A Deficiency: Effects on Growth, Infection and Mortality. Food Nutr Bull. 1991;11:31.

⁷ UNICEF/WHO/MI/CIDA/USAID. Vitamin A Global Initiative. A strategy for Acceleration of Progress in Combating Vitamin A Deficiency. New York: UNICEF; 1997. [Disponible en: http://www.unicef.org/immunization/files/Vit_A_strategy.pdf]. [Último acceso: 14 de agosto de 2014].

⁸ Ross J, Harvey P. Contribution of Breastfeeding to Vitamin A Nutrition of Infants: A Simulation Model. Bull World Health Organ. 2003;81:80-6.

⁹ Varea A, Malpeli A, Etchegoyen G, Vojkovic M, Disalvo L, Apezteguia M, et al. Short-Term Evaluation of the Impact of a Food Program on the Micronutrient Nutritional Status of Argentinean Children under the Age of Six. Biol Trace Elem Res. Publicación electrónica antes de impresión; 2011.

¹⁰ Durán P, Mangialavoria G, Biglieria A, Kogana L, Abeyá Gilardon E. Estudio

descriptivo de la situación nutricional en niños de 6-72 meses de la República Argentina. Resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. Arch Argent Pediatr. 2009;107(5):397-404.

¹¹ Macías SM, Rodríguez S, Ronayne de Ferrer PA. Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia. Arch Argent Pediatr. 2006;104(5):423-430.

¹² Mello-Neto J, Rondo P, Oshiiwa M, Morgano M, Zacari C, Domingues S. The Influence of Maternal Factors on the Concentration of Vitamin A in Mature Breast Milk. Clinical Nutrition. 2009;28:178-181.

¹³ Stoltzfus R, Underwood B. Breast-Milk Vitamin A as an Indicator of the Vitamin A Status of Women and Infants. Bulletin of the World Health Organization. 1995;73(5):703-711.

¹⁴ Lucas A, Gibbs JA, Lyster RL, Baum JD. Crematocrit: Simple Clinical Technique for Estimating Fat Concentration and Energy Value of Human Milk. Br Med J. 1978;1:1018-20.

¹⁵ Rogers IS, Emmett P, Holding J. The Growth and Nutritional Status of the Breast-Fed Infant. EarlyHumDev. 1997;49(Sup.):S157-S174.

¹⁶ National Research Council. Recommended Dietary Allowances. 10a ed. Washington DC: National Academy Press; 1989.

¹⁷ Institute of Medicine. Dietary Reference Intake for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. 1a ed. Washington DC: National Academy Press; 2001.

¹⁸ Segre C, Armellini P, Marino W. San Pablo: Sarvier; 1995.

¹⁹ Sager GH. Bancos de leche humana pasteurizada. Capítulo 2. [Disponible en: www.sap.org.ar/pronap/pronap2009/modulo1/Pronap2009_cap2.pdf].

[Último acceso: 14 de agosto de 2014].

- ²⁰ Penteado M. Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri (SP): Manole; 2003.
- ²¹ Roncada M. Vitamina A. En: Dutra de Oliveira JE, Machine JS. Ciências Nutricionais. San Pablo: Sarvier; 1998.
- ²² Francis J, Rogers K, Dickton D, Twedt R, Pardini R. Decreasing Retinol and -Tocopherol Concentrations in Human Milk and Infant Formula Using Varied Bottle Systems. *Matern Child Nutr.* 2010;doi: 10.1111/j.1740-8709.2010.00279.x.
- ²³ Góes H, Torres A, Donange C, Trugo N. Nutrient Composition of Banked Human Milk in Brazil and Influence of Processing on Zinc Distribution in Milk Fractions. *Nutrition.* 2002;18:590-594.
- ²⁴ Ribeiro K, Melo I, Pristo A, Dimenstein R. The Effect of Processing on the Vitamin A Content of Human Milk. *J Pediatr (Rio J).* 2005;81:61-4.
- ²⁵ Oliveira A, Marinho H. Determinação de vitamina A no leite de mães doadoras do banco de leite humano (BLH) de Manaus/AM: efeito do processamento. *Acta Amazonica.* 2010;40(1):59-64.
- ²⁶ Giuliano A, Neilson E, Yap H, Baier M, Canfield L. Quantification of and Inter/Intra-Individual Variability in Major Carotenoids of Mature Human Milk. *J Nutr Biochem.* 1994;5:551-6.
- ²⁷ López L, Baroni A, Rodríguez V, Greco C, Macías de Costa S, Rodríguez de Pece S, et al. Desarrollo y validación de un método por HPLC para la determinación de niveles de vitamina A en leche materna. Su aplicación a una población rural de Argentina. *ALAN.* 2005;55(2):140-143.