

INFLUÊNCIA DA DILUIÇÃO, DO TEMPO E DA TEMPERATURA PÓS-PREPARO NA OSMOLALIDADE DAS FÓRMULAS LÁCTEAS OFERECIDAS A RECÉM-NASCIDOS

Influence of dilution, time, and temperature after preparation on the osmolality of infant formulas given to newborns

Isabella Nascimento Alves Ferreira^{a,*}, Fernanda Valente Mendes Soares^a, Ana Carolina Carioca da Costa^a, Maria Elisabeth Lopes Moreira^a

RESUMO

Objetivo: Analisar a influência da diluição, o tempo e a temperatura pós-preparo na osmolalidade das fórmulas lácteas oferecidas a recém-nascidos (RN).

Métodos: Estudo experimental e descritivo com uma amostra de diferentes fórmulas lácteas neonatais para verificar a osmolalidade do leite segundo a diluição, o tempo e a temperatura pós-preparo. Foram analisadas sete fórmulas lácteas neonatais nos seguintes tempos: imediatamente (até 5 minutos) após o preparo; 20 e 40 minutos após o preparo; de hora em hora, até completar 8 h; e após 12 e 24 h de preparo. As amostras foram avaliadas após o preparo em temperatura ambiente e depois da refrigeração. Foram elaboradas curvas de osmolalidade com a média das triplicatas de cada amostra de leite. O cálculo da osmolalidade foi aferido no Osmômetro digital A+ da Advanced Instruments, modelo 3.320.

Resultados: O tempo e a temperatura em que os leites ficaram submetidos após o preparo não ultrapassaram o ponto de corte de segurança da osmolalidade na diluição 1:30 em nenhum dos tipos de leite analisados. Na diluição 1:25 a fórmula láctea que possui prebióticos em sua composição ultrapassou o limite após 4 h de preparo.

Conclusões: Os leites testados não ultrapassaram o ponto de corte de 450 mOsm/kg (aproximadamente 400 mOsm/L), indicado como seguro pela Academia Americana de Pediatria (AAP) na diluição preconizada pelos fabricantes. É necessário conhecer os fatores que podem ou não contribuir com o aumento da osmolalidade, afim de se estabelecer condutas seguras e de qualidade para os RN, seguindo protocolos baseados em evidências científicas.

Palavras-chave: Fórmulas infantis; Osmolalidade; Segurança alimentar.

ABSTRACT

Objective: To analyze the influence of dilution, time, and temperature after preparation on the osmolality of infant formulas given to newborns (NBs).

Methods: Experimental and descriptive study with samples of different neonatal formulas to verify the osmolality of the milk according to dilution, time, and temperature after preparation. We analyzed seven neonatal formulas in the following times after preparation: immediately (up to 5 minutes); 20 and 40 minutes; every hour up to 8 hours; and 12 and 24 hours. The samples were evaluated at room temperature and after refrigeration. Osmolality curves were designed with the mean of triplicate samples of each milk sample. The digital Osmometer A+, model 3320, from Advanced Instruments measured the osmolality.

Results: The time and temperature at which the milk was subjected after preparation did not cause the osmolality to exceed its safety cut-off point at a 1:30 dilution in any of the types of milk analyzed. At a 1:25 dilution, the formula with prebiotics in its composition went over the limit after 4 hours.

Conclusions: The milk tested did not exceed the cut-off point of 450 mOsm/kg (approximately 400 mOsm/L), indicated as safe by the American Academy of Pediatrics (AAP) at a dilution recommended by manufacturers. It is important to know the factors that may or may not contribute to the rise of osmolality, in order to establish safe and quality practices for NBs, following protocols based on scientific evidence.

Keywords: Infant formulas; Osmolality; Food security.

*Autor correspondente. E-mail: isabellanascimento87@gmail.com (I.N.A. Ferreira).

^aFundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Recebido em 24 de abril de 2017; aprovado em 24 de setembro de 2017; disponível on-line em 31 de outubro de 2018.

INTRODUÇÃO

A nutrição no início da vida é atualmente reconhecida como um fator determinante para a melhoria dos resultados neonatais de recém-nascidos pré-termo (RNPT).¹ O leite humano (LH) é considerado o alimento ideal para os recém-nascidos (RN) a termo e pré-termo, por causa de seus componentes nutricionais e imunológicos,² sendo a primeira opção de escolha. Na impossibilidade de oferecer o LH, com ou sem o uso de aditivo, a fórmula láctea é indicada para atender às necessidades clínicas e nutricionais dos RNPT, entretanto as fórmulas lácteas fornecidas em pó podem se tornar inseguras para a oferta aos RN se sua forma de preparo não for adequada, principalmente no que se refere à diluição, que é um fator que pode modificar a osmolalidade.³

A Academia Americana de Pediatria (AAP) recomenda, para fórmulas lácteas, um ponto de corte para a osmolalidade de 450 mOsm/kg (aproximadamente 400 mOsm/L),⁴ pois valores acima disso têm sido associada náuseas, vômitos, diarreia e refluxo gastroesofágico, além de estarem intimamente relacionados ao desenvolvimento de enterocolite necrosante (ECN), que é a complicação gastrointestinal mais grave no RNPT de extremo baixo peso e que pode levar ao óbito.⁵⁻⁸

As pesquisas que relatam os fatores associados a alterações na osmolalidade, tais como refrigeração,⁹ acidez,¹⁰ uso de aditivos^{11,12} e adição de vitaminas,¹³ estão voltadas para o LH. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da diluição, a refrigeração e o tempo entre o preparo e a administração na osmolalidade das fórmulas lácteas oferecidas a RN.

MÉTODO

Trata-se de um estudo experimental com amostras de fórmulas lácteas disponíveis no mercado brasileiro oferecidas a RN com diferentes diluições, tempo e temperatura entre o preparo e a administração.

As fórmulas lácteas neonatais avaliadas foram: PreNAN[®] e NAN 1[®] (Nestlé Brasil Ltda.), AptamilPre[®] e Aptamil 1[®] (Danone),

EnfamilEnfaCare[®] eEnfamil 1[®] (MeadJohnson) eSimilac 1[®] (Abbott). A composição nutricional e a osmolalidade fornecida pelos fabricantes encontram-se na Tabela 1. Por questões éticas, as fórmulas lácteas neonatais foram codificadas nos resultados.

As fórmulas lácteas foram preparadas nas diluições 1:30 e 1:25, ou seja, uma colher de medida para 30 mL de água e uma colher de medida para 25 mL de água, respectivamente. O peso do produto presente na colher de medida variou de 4,3 a 5,5 g, conforme cada fabricante.

As amostras foram analisadas imediatamente (até 5 min) após o preparo; 20 e 40 min após o preparo; de hora em hora, até completar 8 h; e após 12 e 24 h de preparo. As amostras foram avaliadas após a manutenção em temperatura ambiente — temperatura do Laboratório de Controle de Qualidade do Banco de Leite do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF), com ar-condicionado entre 15 e 20°C — e em refrigeração — geladeira com controle de temperatura máxima permitida de 5°C.

A osmolalidade é definida como o número de partículas osmoticamente ativas presentes em 1 kg do solvente¹⁴, tendo sido aferida no Osmômetro digital A+ (Advanced Instruments, Norwood, Estados Unidos), modelo 3.320. Treze amostras de cada tipo de leite de um mesmo lote foram analisadas e preparadas segundo especificações do fabricante. As medidas foram aferidas em balanças de precisão e analisadas em triplicata. Os resultados foram impressos pela impressora acoplada ao equipamento e transcritos em uma ficha clínica específica do estudo, permitindo a rastreabilidade dos dados.

Inseriram-se os resultados do estudo em um banco de dados no programa Microsoft Excel. Foram elaboradas curvas de osmolalidade com a média de cada triplicata, separadas por dois grupos de amostras (fórmula láctea de termo e de pré-termo), segundo o tempo de pós-preparo e a temperatura (refrigeração e ambiente). Foi estabelecido como ponto de corte para a segurança do paciente a osmolalidade de 450 mOsm/kg. Além disso, apresentaram-se os resultados por meio de médias e de seu desvio padrão (Tabela 2).

Tabela 1 Valores da osmolalidade, macronutrientes e energia das fórmulas lácteas por 100 g de pó, conforme descrito no site dos fabricantes.

| | PreNAN [®] | NAN 1 [®] | Aptamil Pre [®] | Aptamil 1 [®] | Enfamil EnfaCare [®] | Enfamil 1 [®] | Similac 1 [®] |
|-------------------------|---------------------|--------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------|------------------------|
| Osmolalidade (mOsm/kg) | 320,00 | 290,00 | 330,00 | 250,00 | 310,00 | —* | 303,00 |
| Carboidrato (g) | 53,60 | 57,90 | 49,70 | 53,10 | 52,00 | 55,00 | 55,00 |
| Proteína (g) | 14,50 | 11,40 | 15,40 | 9,76 | 14,00 | 11,00 | 11,00 |
| Lipídeos (g) | 26,00 | 25,80 | 28,30 | 25,90 | 27,00 | 29,00 | 28,00 |
| Valor energético (kcal) | 501,00 | 509,00 | 514,00 | 484,00 | 503,00 | 523,00 | 513,00 |

*O fabricante 1 não forneceu em seu *site* o valor da osmolalidade.

Tabela 2 Osmolalidade média e desvio padrão das fórmulas analisadas segundo o tempo e a temperatura armazenada pós-preparo.

| Tempo | Temperatura ambiente | | Refrigerado | |
|---------------------------|----------------------|-------------------|-------------|-------------------|
| | 1:30 | 1:25 | 1:30 | 1:25 |
| 5 minutos | | | | |
| Fórmula para RNPT 1 | 342,7±7,2 | 422,0±21,6 | 332,7±0,6 | 426,0±7,0 |
| Fórmula para RNPT 2 | 284,0±9,5 | 324,3±2,1 | 280,0±8,7 | 331,7±4,7 |
| Fórmula para RNPT 3 | 308,7±8,3 | 373,0±17,3 | 307,7±0,6 | 361,7±3,2 |
| Fórmula para RN a termo 1 | 374,6±2,9 | 440,7±3,5 | 358,7±3,8 | 436,0±3,6 |
| Fórmula para RN a termo 2 | 275,3±0,6 | 367,0±1,7 | 305,3±1,5 | 378,0±2,6 |
| Fórmula para RN a termo 3 | 219,7±0,6 | 311,7±2,9 | 239,7±1,1 | 329,3±3,0 |
| Fórmula para RN a termo 4 | 311,3±2,1 | 372,0±6,9 | 373,7±1,5 | 373,7±1,5 |
| 1 hora | | | | |
| Fórmula para RNPT 1 | 351,3±6,5 | 414,0±7,0 | 437,0±3,6 | 373,7±1,5 |
| Fórmula para RNPT 2 | 285,0±4,4 | 336,0±10,1 | 272,0±1,5 | 341,0±12,8 |
| Fórmula para RNPT 3 | 305,7±1,2 | 363,7±2,1 | 313,0±7,0 | 362,7±0,6 |
| Fórmula para RN a termo 1 | 380,3±1,5 | 445,3±6,6 | 363,0±1,0 | 439,7±3,5 |
| Fórmula para RN a termo 2 | 280,3±3,2 | 377,0±6,0 | 313,7±1,1 | 385,0±1,7 |
| Fórmula para RN a termo 3 | 223,0±2,0 | 315,3±1,5 | 243,3±2,3 | 332,7±3,0 |
| Fórmula para RN a termo 4 | 312,7±3,0 | 369,0±1,0 | 321,0±3,6 | 372,7±2,3 |
| 6 horas | | | | |
| Fórmula para RNPT 1 | 364,0±14,1 | 433,3±12,5 | 351,3±11,0 | 439,7±11,5 |
| Fórmula para RNPT 2 | 301,3±9,1 | 343,3±6,8 | 281,0±10,4 | 345,7±6,8 |
| Fórmula para RNPT 3 | 308,0±1,7 | 371,0±1,7 | 317,7±9,9 | 371,7±3,2 |
| Fórmula para RN a termo 1 | 392,7±4,0 | 459,0±6,2 | 372,0±1,0 | 456,3±6,1 |
| Fórmula para RN a termo 2 | 289,0±0,0 | 392,7±4,7 | 321,6±4,9 | 397,3±3,2 |
| Fórmula para RN a termo 3 | 226,0±1,0 | 392,7±4,7 | 247,0±1,0 | 397,3±3,2 |
| Fórmula para RN a termo 4 | 316,3±2,0 | 378,0±5,2 | 322,0±1,0 | 378,7±1,1 |
| 12 horas | | | | |
| Fórmula para RNPT 1 | 361,0±15,5 | 431,7±10,2 | 351,3±6,5 | 449,7±16,6 |
| Fórmula para RNPT 2 | 297,0±0,0 | 349,7±6,8 | 282,3±4,9 | 343,3±2,3 |
| Fórmula para RNPT 3 | 319,0±7,0 | 386,7±11,7 | 318,3±7,6 | 372,7±4,6 |
| Fórmula para RN a termo 1 | 394,3±4,1 | 464,7±3,2 | 372,0±1,0 | 461,0±7,8 |
| Fórmula para RN a termo 2 | 296,7±1,5 | 402,3±1,1 | 322,0±1,0 | 402,7±2,1 |
| Fórmula para RN a termo 3 | 232,7±2,3 | 331,3±4,9 | 250,7±1,5 | 346,0±2,6 |
| Fórmula para RN a termo 4 | 317,7±2,8 | 376,0±1,0 | 325,0±1,7 | 382,0±2,6 |
| 24 horas | | | | |
| Fórmula para RNPT 1 | 363,0±5,2 | 452,7±19,4 | 356,0±5,3 | 455,7±7,0 |
| Fórmula para RNPT 2 | 307,3±4,9 | 358,0±18,2 | 286,0±1,7 | 358,0±12,8 |
| Fórmula para RNPT 3 | 325,3±4,5 | 386,0±0,0 | 320,7±4,2 | 375,3±3,2 |
| Fórmula para RN a termo 1 | 408,7±2,3 | 490,0±8,2 | 386,3±2,0 | 476,3±6,8 |
| Fórmula para RN a termo 2 | 305,0±1,0 | 413,7±3,7 | 327,7±2,0 | 407,3±0,6 |
| Fórmula para RN a termo 3 | 235,7±2,9 | 331,0±1,0 | 259,0±6,6 | 350,0±2,0 |
| Fórmula para RN a termo 4 | 320,7±0,6 | 384,3±5,0 | 328,0±1,0 | 384,0±1,0 |

RNPT: recém-nascidos pré-termo; RN: recém-nascido.

O *software* utilizado para a elaboração das curvas de osmolalidade foi o R, versão 3.2.2 (Viena, Áustria).¹⁵

RESULTADOS

A osmolalidade média das fórmulas analisadas segundo o tempo e a temperatura de armazenamento pós-preparo encontra-se na Tabela 2.

As curvas de osmolalidade de acordo com a refrigeração e o tempo entre o preparo e a administração das fórmulas lácteas nas diluições 1:30 e 1:25 para RN a termo são apresentadas na Figura 1. Na diluição 1:30, nenhuma das fórmulas analisadas ultrapassou o valor de 450 mOsm/kg. Na diluição 1:25, tanto em temperatura ambiente como em refrigeração, verificou-se que a fórmula para RN a termo apresentou valores de osmolalidade acima do recomendado pela AAP a partir de 4 h pós-preparo em ar ambiente e em refrigeração.

A Figura 2 mostra as curvas de osmolalidade segundo a refrigeração e o tempo entre o preparo e a administração das fórmulas lácteas para os RNPT, nas diluições 1:30 e 1:25. Observou-se

que a fórmula para RNPT1 ultrapassou o valor de osmolalidade recomendado pela AAP a partir de 12 h pós-preparo, na diluição 1:25 em refrigeração.

DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível observar variações da osmolalidade entre as fórmulas lácteas comercializadas para os RN, principalmente quando ocorre o aumento da densidade calórica (diluição 1:25).

As variações devem-se, principalmente, ao tipo de fórmula láctea utilizada e à forma de diluição. Entre as fórmulas lácteas analisadas, a fórmula para RN a termo apresentou a osmolalidade mais alta, ultrapassando após 4 h o valor recomendado pela AAP na diluição 1:25 nas diferentes temperaturas. Especulamos que esse aumento pode estar relacionado tanto ao aumento da concentração de todos os componentes nutricionais como à presença dos prebióticos galacto-oligosacarídeos (GOS) e fruto-oligosacarídeos (FOS) em sua composição. Os prebióticos são carboidratos não digeríveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade das bactérias favoráveis ao sistema digestivo para benefício da saúde humana.¹⁶

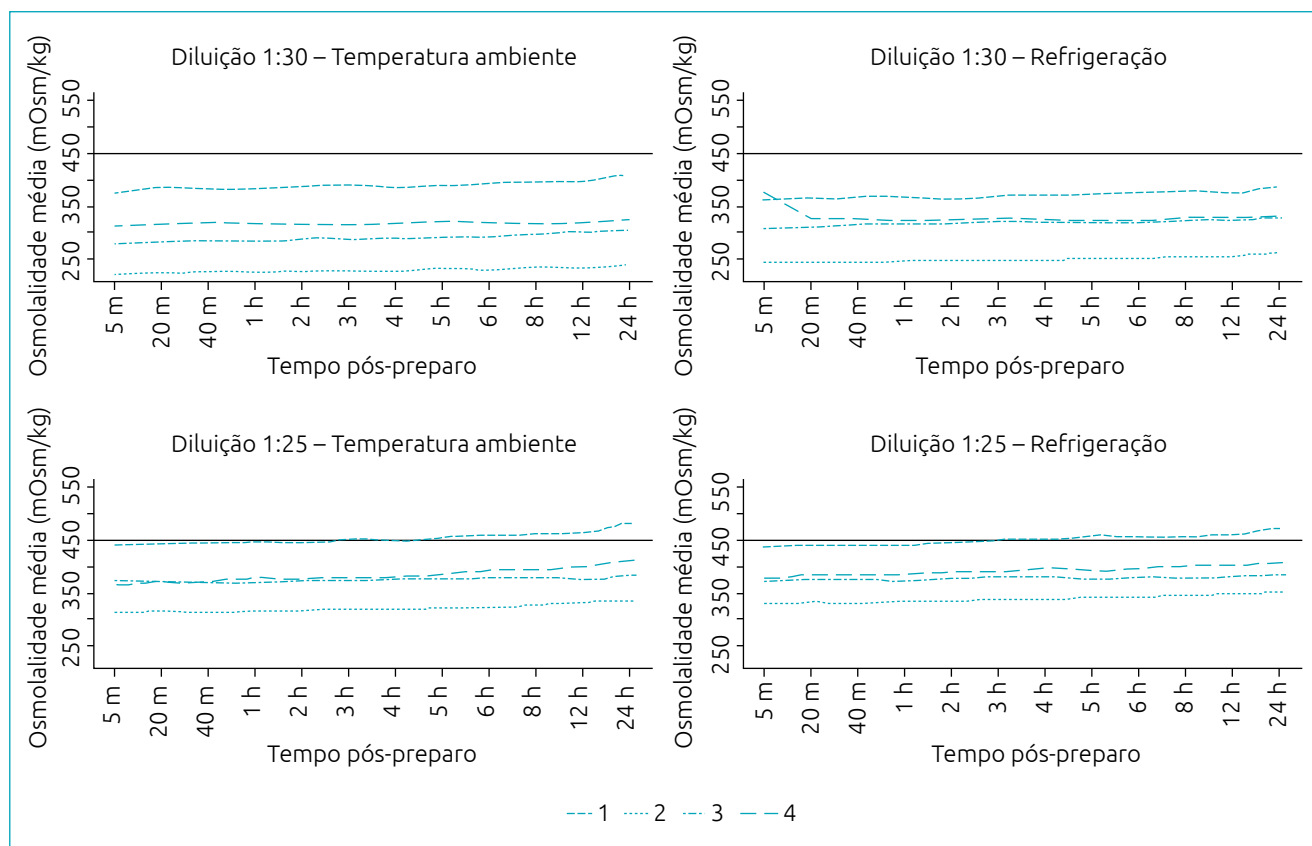


Figura 1 Análise da osmolalidade segundo a refrigeração e o tempo de preparo e administração das fórmulas lácteas comercializadas para os recém-nascidos a termo nas diluições 1:30 e 1:25.

Steele et al. analisaram a osmolalidade de 11 fórmulas lácteas, nas quais foram acrescentados aditivos (espessantes), e constataram que apenas uma fórmula láctea mais concentrada e algumas fórmulas suplementadas excederam a osmolalidade de 400 mOsm/kg.¹¹

Na prática clínica, em RN com patologias que não permitem aumento de volume, uma estratégia comumente usada é aumentar a concentração da fórmula láctea de 1:30 para 1:25,¹⁷ entretanto essa prática pode não ser segura, em razão do aumento da osmolalidade. Logo, outra solução para resolver essa questão clínica consiste na suplementação individualizada. Assim sendo, dependendo da necessidade do RN, que é maior quanto menor a idade gestacional, componentes específicos podem ser adicionados¹⁷. Segundo Steele et al., a suplementação de gordura aumenta a osmolalidade em 0,7 mOsm/kg, enquanto a suplementação com carboidratos a aumenta em 31 mOsm/kg.¹¹ Para Silva et al., a suplementação com polímeros de glicose e/ou triglicérides de cadeia média nas fórmulas lácteas em pó e líquida para RNPT fornece aumento da ingestão de energia em crianças sem exceder o máximo recomendado para osmolalidade.¹⁸ Essa prática, porém, é questionável, visto que o aumento de energia sem

a adequada proporção de aminoácidos pode levar ao incremento do depósito de gordura e peso, mas não necessariamente ao crescimento compatível.¹⁹

Esses achados reforçam a importância de se conhecer a osmolalidade tanto das fórmulas lácteas como dos aditivos e a concentração a ser oferecidas aos RNPT, uma vez que há variação entre elas. No presente estudo, observou-se que a fórmula para RN a termo 1 e a fórmula para RNPT 1 apresentam a osmolalidade próxima do ponto de corte (450 mOsm/kg) e devem ser oferecidas de acordo com as recomendações dos fabricantes (1:30), como forma de prevenir agravos para a saúde.

Entre as fórmulas lácteas analisadas para este estudo, nenhuma apresentou em seu rótulo informações sobre o valor da osmolalidade, estando este descrito apenas no *site* dos fabricantes. Dados sobre a osmolalidade desses produtos são escassos ou incompletos, apesar da sua importância para a prática clínica, especialmente para RN com problemas gastrintestinais.²⁰

Em relação ao tempo entre o preparo e a possível administração, observou-se que a osmolalidade foi aumentada e ultrapassou o ponto de corte apenas após 12 h de preparo para a fórmula para RNPT 1, e após 4 h de preparo para a fórmula

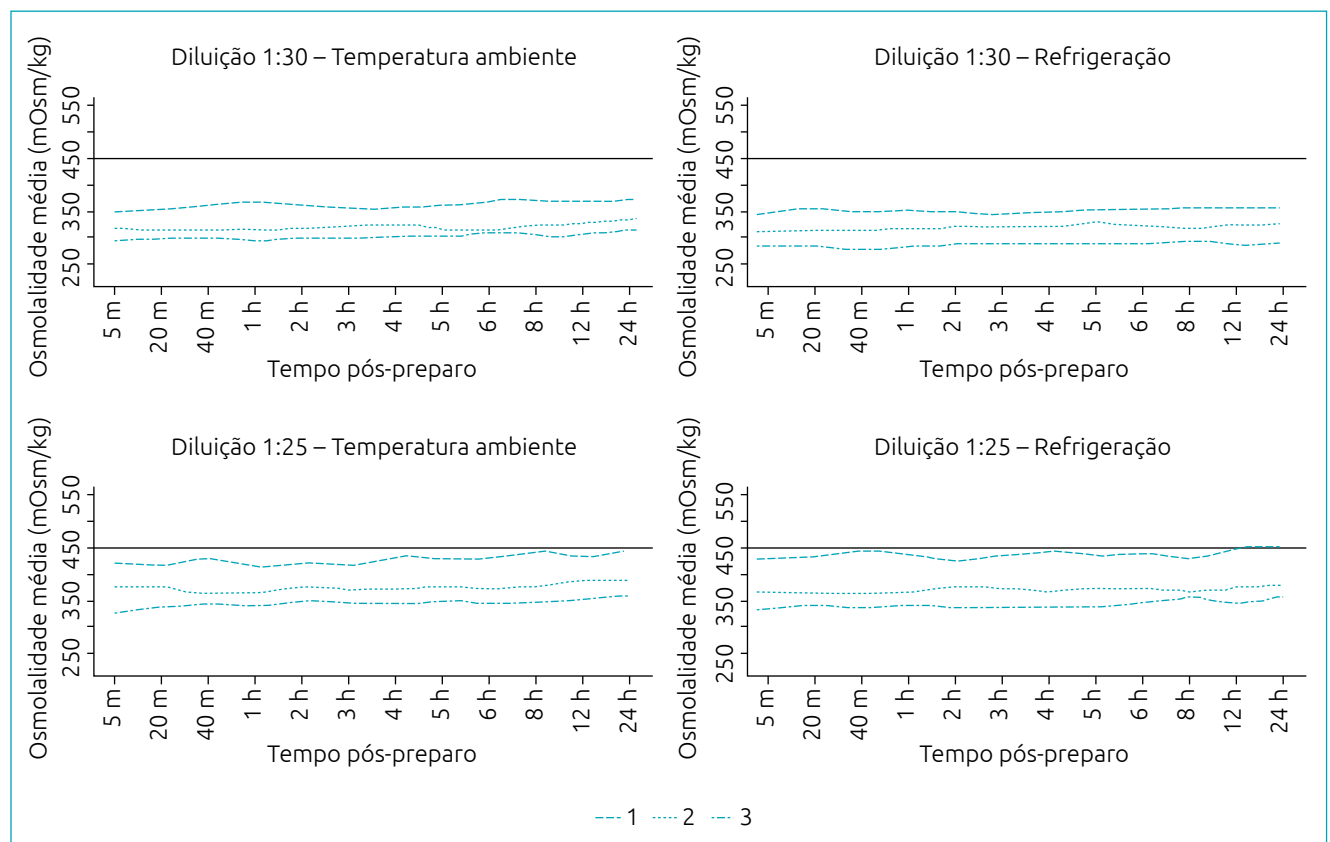


Figura 2 Análise da osmolalidade segundo a refrigeração e o tempo de preparo e administração das fórmulas lácteas comercializadas para os recém-nascidos pré-termo nas diluições 1:30 e 1:25.

para RN a termo 1. Esse aumento na osmolalidade só foi observado na diluição 1:25. Evaporação e presença dos prebióticos são as possíveis explicações para esse achado, principalmente porque o aumento em relação ao tempo entre o preparo e a administração não foi encontrado nas outras fórmulas lácteas.

Uma limitação do estudo consiste no fato de que as amostras analisadas foram obtidas do mesmo lote, partindo da suposição de que as fórmulas lácteas estavam em conformidade com os padrões de qualidade de fabricação, não diferindo estaticamente entre os lotes.

Enfatizamos que todas as fórmulas analisadas indicaram como recomendação em seus rótulos: “O consumo deve ser imediato e, quando necessário o preparo com antecedência, a mesma deve ser mantida sob refrigeração a uma temperatura menor que 5°C por no máximo 24 horas. O preparo, o armazenamento e o uso inadequado deste produto podem trazer perigos à saúde do lactente”. O fabricante da fórmula para RN a termo 3 destacou, ainda, o seguinte: “Uma vez preparada, a fórmula pode deteriorar rapidamente”.

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 50 estabelece as Normas para Lactários, que regulamenta a infraestrutura de um lactário adequado, mas não fornece nenhum detalhe sobre o preparo da fórmula láctea, o tempo em que a dieta pode ficar em temperatura ambiente nem muito menos menciona a osmolalidade recomendada da fórmula.²¹ Atualmente, nas legislações brasileiras existe uma carência de protocolos e

diretrizes de manipulação, armazenamento e administração das dietas ofertadas aos RN.

Essas lacunas de informações supracitadas levaram a alguns questionamentos que nortearam o presente estudo, na busca de aprofundar o conhecimento baseado em evidências científicas: qual é esse tempo “imediato” de consumo? Existe um intervalo de tempo de segurança? A temperatura pode influenciar na osmolalidade desses leites? Neste estudo, verificou-se que o tempo e a temperatura em que os leites ficaram submetidos após o preparo não ultrapassaram o ponto de corte de segurança da osmolalidade na diluição 1:30, somente na diluição 1:25.

O conhecimento de fatores que podem ou não contribuir com o aumento da osmolalidade é importante para estabelecer condutas seguras e de qualidade para os RN. Este estudo visou contribuir com evidências para a elaboração e a implantação de protocolos com o objetivo de nortear os procedimentos de manipulação e administração das fórmulas lácteas nas unidades de terapia intensiva neonatal.

Financiamento

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil. Processo n. 401784/2015-0.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Cormack BE, Embleton ND, Goudoever JB, Hay WW, Bloomfield FH. Comparing apples with apples: it is time for standardized reporting of neonatal nutrition and growth studies. *Pediatr Res*. 2016;79:810-20.
2. Ziegler EE. Human milk and human milk fortifiers. In: Koletzko B, Poindexter B, Uauy R. Nutritional care of preterm infants: scientific basis and practical guidelines. *World Rev Nutr Diet*. 2014;110:215-27.
3. Abrantes VR, Tabai KC. Fórmulas para o público infantil: a promoção comercial nas rotulagens de fórmulas infantis e sua adequação com a legislação vigente. *Rev Bras Econ Doméstica*. 2013;24:21-37.
4. American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. 2012;129:827-41.
5. Neu J, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med*. 2011;364:255-64.
6. Patole SK, Klerk N. Impact of standard is feeding regimens on incidence of neonatal necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2005;90:147-51.
7. Miyaki M, Steil F, Sarquis AL, Silva R. Apresentação clínica da enterocolite necrosante: diagnóstico e prognóstico. *Pediatrics (São Paulo)*. 2007;29:192-9.
8. Gregory KE, Deforge CE, Natale KM, Phillips M, Van Marter LI. Necrotizing enterocolitis in the premature infants: neonatal nursing assessment, disease pathogenesis, and clinical presentation. *Adv Neonatal Care*. 2011;11:155-66.
9. Choi A, Fush G, Rochow N, Fusch C. Target fortification of breast milk: predicting the final osmolality of the feeds. *PLoS One*. 2016;11:1-12.
10. Brazil - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de Leite Humano: Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos. Brasília: ANVISA; 2008.
11. Stele JR, Meskell RJ, Garner AE. Determining the osmolality of over-concentrated and supplemented infant formulas. *J Hum Nutr Diet*. 2013;26:32-7.
12. Cunha RD, Lamy Filho F, Rafael EV, Lamy ZC, Queiroz AL. Breast milk supplementation and preterm infants development after hospital discharge: a randomized clinical trial. *J Pediatr (Rio J)*. 2016;92:136-42.

13. Rigourd V, Brahim ID, Smii S, Razafimaheta H, Quetin F, Leroy E, et al. Protocole d'administration de l'Uvestérol ADEC® au prématuré nourri au lait de femme enrichi. Arch Pédiatrie. 2016;4353:1-5.
14. Warhol RM, Eichenholz A, Mulhausen RO. Osmolality. Arch Intern Med. 1965;116:743-9.
15. R-project.org [homepage on the Internet]. R: A language and environment for statistical computing [cited 2017 Jun 11]. Available from: <https://www.R-project.org>
16. Vandenplas Y, Zakharova I, Dmitrieva Y. Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics. Bri J Nutr. 2015;113:1339-44.
17. Fomon SJ, Filmer LJ Jr, Thomas LN, Anderson TA, Nelson SE. Influence of formula concentration on caloric intake and growth of normal infants. Acta Paediatr Scand. 1975;64:172-81.
18. Silva LP, Dias MP, Virella D, Serelha M. Osmolality of elemental and semi-elemental formulas supplemented with non protein energy supplements. J Hum Nutr Diet. 2008;21:584-90.
19. Senterre T, Rigo J. Optimizing early nutritional support based on recente recommendations in VLBW infants and postnatal growth restriction. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011;53:536-42.
20. Abreu J, Lopes E, Dini E. Osmolalid de productos y fórmulas para la terapia nutricional. Invest Clin. 2009;50:433-45.
21. Brazil - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução – RDC nº 50, de 21 de fevereiro de 2002, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.