



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FORMULAÇÕES LÁCTEAS INFANTIS PREPARADAS EM LACTÁRIOS HOSPITALARES DO MUNICÍPIO DE CAMPINAS (SP) E REGIÃO

Harumi Colussi **Horita**¹, Gina Maria Bueno Quirino **Cardozo**², Fabiana Taminato
Imazaki², Maristela da Silva do **Nascimento**², Margarete Midori **Okazaki**³

RE14232

RESUMO

*O objetivo do presente estudo foi avaliar as condições microbiológicas de formulações lácteas infantis preparadas em lactários de seis unidades hospitalares do município de Campinas (SP) e região. Todas as amostras avaliadas apresentaram micro-organismos em níveis que variaram: de <1UFC/mL a $6,3 \times 10^5$ UFC/mL para aeróbios mesófilos e ausência de enterobactérias totais, *Escherichia coli* e coliformes totais em 1mL de amostra. Somente um lactário (17%) apresentou os menores valores de contagens microbiológicas para todos os micro-organismos avaliados.*

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the microbiological conditions of infant milk formulations prepared in lactaries of six hospitals in the city of Campinas (SP) and region. All samples showed microorganisms at levels ranging from: <1CFU/mL to $6,3 \times 10^5$ CFU/mL for aerobic mesophilic and total absence in 1 mL of sample for enterobacteria, *Escherichia coli* and total coliforms. Only one lactary (17%) had the lowest values of microbiological counts for all microorganisms assessed.

1. Autor, bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biomédicas, Faculdades METROCAMP, Campinas-SP; harumi.horita@yahoo.com.br

2. Colaborador: CCQA/ITAL, Campinas-SP

3. Orientador: Pesquisador, MICROBIOLOGIA/CCQA/ITAL, Campinas-SP; okazaki@ital.sp.gov.br



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

INTRODUÇÃO

Entre as unidades hospitalares responsáveis pela preparação de alimentos e que merecem especial atenção, devido ao risco de veiculação de micro-organismos através dos alimentos, encontram-se os lactários (ARAÚJO *et al.*; 2008). Estas unidades são destinadas ao preparo, higienização e distribuição de leite materno, mamadeiras de leite e seus substitutos, água, chás e demais hidratantes, prescritos pela equipe médica ou pelo nutricionista para atender às necessidades de recém nascidos e lactentes nas unidades de internação (PIOVACARI *et al.*; 2009).

As formulações lácteas infantis em pó preparadas em mamadeiras e diluídas em água são consideradas uma das formas de veiculação de micro-organismos patogênicos a recém-nascidos e lactentes (ARAÚJO *et al.*; 2008). Por definição, fórmula infantil para lactente é o produto em forma líquida ou em pó, destinada à alimentação de lactentes até o sexto mês de idade, sob prescrição de um médico ou nutricionista, em substituição total ou parcial do leite materno, para satisfação das necessidades nutricionais deste grupo etário (BRASIL, 2002). Portanto, uma vez que esses tipos de alimentos geralmente são a única fonte de nutrientes para as crianças internadas em um hospital, é de extrema importância que os mesmos sejam não apenas adequados às necessidades nutricionais desses pacientes, mas também seguros microbiologicamente, pois as infecções que ocorrem ao longo do primeiro ano de vida são as principais causas da elevação do índice de morbi-mortalidade entre os lactentes (SANTOS, 2006).

Diante dessas informações, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de formulações lácteas infantis preparadas em lactários hospitalares do município de Campinas (SP) e região.

MATERIAIS E MÉTODOS



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

As amostras de formulações lácteas infantis reconstituídas nos lactários foram coletadas de acordo com a metodologia descrita em SILVA *et al.* (2010), e mantidas refrigeradas dentro de uma caixa isotérmica durante o período de transporte ao laboratório de microbiologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), para avaliações microbiológicas.

Os ensaios microbiológicos foram realizados dentro de um período máximo de 3 horas após a coleta das amostras, e de acordo com as metodologias preconizadas pela AOAC Official Method 991.14 (2010) para a determinação de coliformes totais e *Escherichia coli* e pelo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES, F. P. & ITO, K. (2001), da American Public Health Association, para a contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e enterobactérias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram visitadas seis unidades hospitalares de quatro municípios paulistas (Campinas, Nova Odessa, Jundiaí e Sumaré), dentre as quais, três pertencentes à iniciativa privada (unidades A, D e E) e as demais unidades, à rede pública estadual ou municipal. Em cada unidade foi realizada uma única visitação devido aos controles rígidos de acesso de pessoas não pertencentes aos quadros de funcionários nas dependências internas dos hospitais, objetivando a prevenção de possíveis contaminações cruzadas e consequentemente, infecções hospitalares.

Com exceção da amostra de fórmula infantil coletada na unidade F, e cuja preparação ocorreu no dia anterior à sua coleta, todas as demais foram preparadas e coletadas no mesmo dia. As reconstituições das amostras foram realizadas por lactaristas de cada unidade hospitalar, através da adição de água seguida de homogeneização manual da mistura obtida. O tipo de tratamento aplicado à água de reconstituição das formulações diferiu de uma unidade à outra (Tabela 1): em cinco unidades (83%) a água utilizada nos respectivos lactários era proveniente da rede de abastecimento público (água de torneira) e filtrada, e em seguida, tratada termicamente antes do uso.



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

A preparação das formulações na unidade D era realizada com água mineral sem nenhum tratamento prévio, colocando em risco a saúde dos lactentes haja visto uma possibilidade de ocorrência de micro-organismos patogênicos em águas minerais.

Tabela 1. Tratamento aplicado à água utilizada na reconstituição das formulações lácteas infantis

Unidade hospitalar	Tratamento
A	Fervura em fogão (10 a 15 minutos)
B	Aquecimento em micro-ondas (<1minuto)
C	Esterilização em autoclave (121°C/30minutos)
D	Sem tratamento
E	Fervura em fogão (10 a 15 minutos)
F	Esterilização em autoclave (121°C/30minutos)

Devido às dificuldades e ao elevado custo que envolve a detecção de micro-organismos patogênicos, os micro-organismos indicadores são muito utilizados para avaliar a qualidade e a segurança microbiológica dos alimentos. Os micro-organismos indicadores são espécies ou grupos de micro-organismos que, quando presentes em um alimento, possibilitam fornecer informações sobre a deterioração potencial do alimento ou sobre a possível ocorrência de micro-organismos patogênicos, podendo também indicar condições higiênico-sanitárias indesejáveis durante o preparo, armazenamento e distribuição do alimento. Dentre os grupos de micro-organismos comumente utilizados



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

como indicadores, destacam-se os coliformes totais e fecais, *Escherichia coli*, Enterobactérias e *Streptococcus fecalis* (ROSSI, 2007), além dos aeróbios mesófilos.

Os resultados microbiológicos das formulações infantis (Tabela 2) evidenciaram que as amostras analisadas apresentaram micro-organismos em níveis que variaram: de <math><1\text{UFC/mL}</math> a Escherichia coli e coliformes totais em 1mL de amostra. Somente um lactário (17%) apresentou os menores valores de contagens microbiológicas para todos os micro-organismos avaliados (unidade A). Com relação aos coliformes totais e *Escherichia coli*, verificou-se que 100% das amostras coletadas estavam de acordo com a Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA (BRASIL, 2001), que estabelece 10UFC/mL como limite máximo aceitável de coliformes totais e ausência de *Escherichia coli* em 1g ou mL de amostra. Contudo, GUERRA *et al.*(2012) encontraram coliformes totais em duas (25%) amostras de formulações infantis reconstituídas de um total de oito, em níveis acima de 10UFC/mL ($>2,4 \times 10^3\text{UFC/mL}$ e $2 \times 10\text{UFC/mL}$) durante o estudo realizado num hospital público de Cuiabá (MT). SANTOS e TONDO (2000) também observaram contaminações por coliformes totais em 24% das amostras de formulações infantis reconstituídas, em quantidades que variaram de $9 \times 10\text{NMP/mL}$ a $9,3 \times 10^4\text{NMP/mL}$, durante a pesquisa realizada em um lactário do município de Porto Alegre (RS). Além disso, há autores que relataram a presença de coliformes termotolerantes em amostras de formulações infantis preparadas em lactários, como NIENOV *et al.*(2009) que encontraram esses micro-organismos em 61,1% e 38,8% das amostras coletadas nos períodos matutino e vespertino, respectivamente. ARAÚJO *et al.*(2008) também detectaram coliformes termotolerantes em formulações infantis (11,9% das amostras) preparadas num lactário do município de Recife (PE), em níveis que variaram de 3,6 a $4,6 \times 10^2\text{NMP/mL}$ coletadas.

Embora a Resolução RDC nº12/2001 não estabeleça padrões microbiológicos para as contagens de aeróbios mesófilos e enterobactérias totais em formulações infantis, nas amostras coletadas no presente trabalho foram realizados tais ensaios, uma vez que



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

a presença desses micro-organismos em níveis elevados indica falhas nas boas práticas de manipulação e/ou higienização. Em nenhuma amostra foi observado o desenvolvimento de enterobactérias totais, diferentemente dos resultados obtidos por ROSSI *et al.*(2010) que encontraram enterobactérias totais (<3NMP/mL a >1,1x10⁴NMP/mL) nas seis amostras de formulações infantis coletadas e analisadas. Com relação às bactérias aeróbias mesófilas, as duas maiores contagens desses micro-organismos no presente trabalho ocorreram nas amostras coletadas num lactário da rede de saúde pública (unidades C) e numa particular (unidade E), cujos valores foram próximos ao evidenciado por ROSSI *et al.*(2010) (valor máximo 1,1x10⁵UFC/mL).

TABELA 2. Contagem de micro-organismos observados em formulações lácteas infantis reconstituídas

Unidade avaliada	Enterobactérias totais (UFC/mL)	Coliformes totais (UFC/mL)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	Aeróbios mesófilos (UFC/mL)
A	<1	<1	<1	<1
B	<1	<1	<1	10
C	<1	<1	<1	6,3x10 ⁵
D	<1	<1	<1	7,3x10 ²
E	<1	<1	<1	1,3x10 ⁵
F	<1	<1	<1	10

UFC = unidade formadora de colônia

Utilizando como referência, o parâmetro adotado por SANTOS e TONDO (2000) para bactérias aeróbias mesófilas em formulações lácteas reconstituídas (<10²UFC/mL), verificou-se que três unidades avaliadas (C, D e E) no presente estudo apresentaram



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

amostras em condições microbiológicas insatisfatórias, sendo duas delas (C e E) com resultados acima do nível de contaminação encontrado por SANTOS e TONDO (2000) ($9,6 \times 10^4$ UFC/mL) durante seu estudo realizado em um lactário do município de Porto Alegre (RS). NIENOV *et al.*(2009) também encontraram contaminação por aeróbios mesófilos superior a 10^2 UFC/mL em 63,9% e 58,3% das amostras coletadas, respectivamente, nos períodos da manhã e da tarde, em um lactário hospitalar do município de Rio Grande (RS).

CONCLUSÃO

Todas as amostras de formulações avaliadas estavam de acordo com os padrões microbiológicos para coliformes totais e *Escherichia coli*, estabelecidos pela Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA.

Embora a legislação vigente (RDC nº12/2001) não estabeleça padrões microbiológicos para as contagens de bactérias aeróbias mesófilas e enterobactérias totais em formulações infantis, as avaliações desses micro-organismos no presente estudo foram extremamente úteis, pois observaram-se níveis de até $>10^3$ UFC/mL para aeróbios mesófilos nas amostras, indicando alguma falha nos procedimentos de preparação e/ou higienização dentro dos lactários. Portanto, os resultados microbiológicos foram informados à cada responsável técnico do respectivo lactário visitado, possibilitando-lhe a tomada de ação corretiva internamente.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq, pela bolsa PIBIC concedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

AOAC Official Method 991.14 (Petriilm E. coli Count Plate). In: HORWITZ, W. (ed.), **Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed, revision 3**. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2010. Chapter 17, p.32.

ARAÚJO, A. S.; FILIZOLA, L. R. S.; MAIA, M. M. D. **Avaliação microbiológica de formulações lácteas infantis em pó, preparadas em mamadeiras. Avaliação no lactário de um hospital da cidade de Recife - PE. INFARMA**, v. 20, n. 7/8, p. 13-17, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária– ANVISA. **Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2 de jan. 2001. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária– ANVISA. **Resolução RDC nº50, de 21 de fevereiro de 2002**. Regulamento técnico: Planejamento, Programação, avaliação e aprovação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde, Brasília, DF.

DOWNES, F. P. & ITO, K. (eds.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed**. Washington: American Public Health Association, 2001. 676 p.

GUERRA, L. D. S.; ROSA, O. O.; FUJII, I. A. Avaliação da qualidade microbiológica de dietas enterais, formulações lácteas e da água de preparo. **Alim. Nutr. Araraquara**, v. 23, n. 2, p. 205-210, 2012.

NIENOV, A. T.; MACEDO, M. B.; FÉLIX, C.; RAMOS, D.; MOREIRA, A. N.; SILVA, P. E. A. Qualidade higiênico-sanitária de formulações ministradas a neonatos. **Nutrire: Rev. Sociedade Brasileira Alimentação e Nutrição**, v. 34, n. 2, p. 127-138, 2009 .

PIOVACARI, S. M. F.; FIGUEIRA, V. A. C. R.; POTENZA, A. L. S. Segurança alimentar: lactário. **Einstein: Educação Continuada Saúde**. 2009; 7(4 Pt 2): 216-218. Disponível em



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

<<http://pt.scribd.com/doc/60159763/SEGURANCA-ALIMENTAR-LACTARIO>> Acesso em: 06 jun. 2014.

ROSSI, P. **Avaliação de perigos microbiológicos no preparo de formulações infantis em lactário hospitalar.** 2007. Dissertação – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007.

ROSSI, P.; KABUKI, D. Y.; KUAYE, A. Y. Avaliação microbiológica do preparo de formula láctea infantil em lactário hospitalar. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 4, p. 503-509, 2010.

SANTOS, M. I. S.; TONDO, E. C. Determinação de perigos e pontos críticos de controle para implantação de sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle em lactário. **Rev. Nutrição**, v.13, n.3, p. 211-222, 2000.

SANTOS, R. F. S. **Ocorrência de *Enterobacter sakazakii* em formulações infantis para lactentes em hospitais e maternidades da região de Campinas/SP.** 2006. Dissertação (mestre em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade estadual de Campinas, Campinas, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F.A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 4 ed. São Paulo: Varela, 2010.