

67

REVISTA
RECCS
FORTALEZA
Nº 9
P. 67-75
1997

Lauro Antônio
Cabral de Barros

Nutricionista do
Hospital Albert Sabin.

Terezinha Feitosa
Machado

Orientadora da
Monografia. Pesquisadora da EMBRAPA/CNPAT na área de Microbiologia de Alimentos MS em Tecnologia de Alimentos.

ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS DE LEITE PRODUZIDO E CONSUMIDO EM LACTÁRIOS DE HOSPITAIS DA CIDADE DE FORTALEZA*

RESUMO

Há muito se conhece o papel dos alimentos como veículo de transmissão de diversos microorganismos e metabólicos microbianos, alguns dos quais patógenos para o homem. A correta alimentação aliada às boas condições higiênicas é fundamental para o desenvolvimento da criança. Não há dúvidas de que o leite materno é ideal para os recém-nascidos e lactentes, repercutindo em toda sua vida. Entretanto, por diversas razões, necessita-se alimentar a criança utilizando fórmulas lácteas e/ou não lácteas, mas que exigem um controle microbiológico rigoroso e correto preparo das mesmas, a fim de que se atinjam os objetivos no que se refere à saúde da criança. No hospital, o local indicado para o preparo de tais alimentos é o lactário. Com o objetivo de verificar a ocorrência de contaminação bacteriana em mamadeiras preparadas em lactários, foram coletadas amostras de hospitais da cidade de Fortaleza. Foram realizadas as contagens de bactérias mesófilas aeróbias, contagem e identificação de *Staphylococcus aureus*, determinação do número mais provável (NMP) de bactérias coliformes totais e fecais e pesquisa de *Salmonella*. A contagem de bactérias mesófilas variou de < 10 a $3,8 \times 10^7$ UFC/ml do alimento. O NMP de coliformes totais variou de 0,3 a 240/ml, enquanto para coliformes fecais o máximo encontrado foi de 0,3/ml de leite de lactário. Em nenhuma amostra foi detectada a presença de *S.aureus* e de *Salmonella*. De acordo com estes resultados, constatou-se que 50% das amostras analisadas foram classificadas como leite tipo A, 5% como tipo B e cerca de 45% ultrapassaram os limites tolerados pelo Ministério da Saúde para leite tipo C.

*Este trabalho é parte integrante da monografia "A Importância do Lactário na Unidade Hospitalar", apresentada no curso de especialização em Nutrição e Dietética da Universidade de Fortaleza.

ABSTRACT

The present work highlights the importance of a dispensary milk's existence in a hospital unit and of a basic unit and of a basic hygiene care, that should be regarded as indispensable in the preparation of milky or non-milky formulas in the dispensary milk.

Five samples of milk were collected at four hospitals in Fortaleza, in a total of twenty samples were subjected to bacteriological analysis.

*They made the counting of mesophilic aerobic bacteria (standard counting in plates), counting of **Staphylococcus aureus**, determination of the most probable number (MPN), of total and faecal coliforms and research on **Salmonella**.*

The results of the analysis revealed a variation in the counting of mesophilic aerobic bacteria from $< 10/\text{ml}$ to $3,8 \times 10^7/\text{ml}$, being observed that 45% of the sample contained between 10^5 and 10^8 CFU/ml, and they were classified by the Health Ministry as food in non-satisfactory hygiene conditions, and the fact got more serious considering the fact that the child being fed with this milk was sick.

As to the counting of total coliforms the MPN varied from 0,3 to 240/ml. A half of samples were inside the limit established by the rules of the Health Ministry for type A milk, and the remaining ones were over the limits tolerated for B and C types. It was also found the presence of 0,3 faecal coliforms a ml of milk in 10% of the samples, out of the standard of A type milk, though they were inside the limits permitted for B and C types.

*As to the counting of **S.aureus** and research on **Salmonella**, all the samples were negative in 25 ml of the product, that is, inside the standards established by the Health Ministry.*

It was observed that, in the hospitals (A and B) where was a dispensary milk and a bigger care with basic hygiene. The samples were inside the standards. The same didn't happen with C hospital, that doesn't have a dispensary milk and prepares milk at meat and vegetables area.

In Fortaleza, of the 57 hospitals registered at the State Health Department, 27 are attending children, but just 7 (26%) have a dispensary milk. The present work made a research in 57% of the dispensary milk existing in town.

INTRODUÇÃO

A correta alimentação aliada às boas condições higiênicas é fundamental para o crescimento e desenvolvimento da criança. Não há dúvidas de que o leite materno é o ideal para os recém-nascidos e lactentes repercutindo em toda a sua vida. Entretanto, por diversas razões, necessita-se alimentar a criança utilizando fórmulas lácteas e/ou não lácteas, mas que exigem um controle microbiológico rigoroso e o correto preparo das mesmas, a fim de que se atinjam os objetivos no que se refere à saúde da criança. No hospital, o local indicado para o preparo de tais alimentos é o lactário.

O lactário é a unidade do hospital destinada ao preparo, higienização e distribuição das mamadeiras de leite e seus substitutos, sob

as mais rigorosas técnicas de assepsia, de maneira a oferecer à criança uma alimentação adequada com o menor risco de contaminação (FAZIO, 1986).

Sendo assim, é imperativa a necessidade do lactário como unidade imprescindível no hospital e em outras instituições que forneçam alimentação infantil com fórmulas lácteas e/ou não lácteas de uma forma adequada com o menor risco de contaminação.

Certamente, as condições higiênicas e técnicas de preparo, o rigoroso controle de saúde dos manipuladores, a utilização dos aparatos, a rigorosa higienização do ambiente, equipamentos e utensílios, influirão diretamente no resultado final que se objetiva a obter, ou seja,

uma alimentação adequada que repercutirá positivamente na saúde da criança.

Em se tratando o leite de um excelente meio de cultura, e tendo em vista que a maioria das dietas no lactário são de origem láctea, tem-se uma razão para uma maior preocupação com a higienização e controle microbiológico destes alimentos, pois uma das formas de veiculação de microorganismos patógenos a recém-nascidos e crianças de baixa faixa etária em hospitais, pode ser o leite preparado no lactário, bem como mamadeiras higienizadas indevidamente.

Diante disso, esta pesquisa foi conduzida visando avaliar as condições higiênico-sanitárias de amostras de leite de lactários da cidade de Fortaleza.

MATERIAL E MÉTODOS

O material usado neste trabalho constou de vinte (20) amostras de leite preparadas em lactários de hospitais da cidade de Fortaleza, aqui denominados A, B, C e D.

As amostras foram coletadas no período de outubro a dezembro de 1995, imediatamente após o preparo e distribuição nas mamadeiras dos próprios lactários e conduzidas ao laboratório, onde foram submetidas à análise microbiológica.

Para cada análise, 25 ml da amostra foram homogeneizadas com 225 ml de água peptonada, obtendo-se assim a diluição de 10^{-1} . A partir desta diluição foram preparadas diluições decimais até 10^{-5} , seguindo as recomendações do INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIOS FOR FOODS (ICMSF, 1978).

Para a contagem de bactérias mesófilas, utilizou-se do método de plaqueamento direto das diluições, usando o meio de cultivo ágar padrão para contagem. As placas foram incubadas a $35^{\circ}\text{C}/48$ horas (APHA, 1978)

Na determinação de bactérias do grupo coliformes totais, utilizou-se da técnica do número mais provável (NMP). A partir das diluições, alíquotas de 1,0 ml foram inoculadas em série de três tubos, usando o meio de caldo lactose bile verde brilhante (BVB) contendo bile a 2%, com tubo de Durham e após a incubação a $35^{\circ}\text{C}/48$ horas, foi determinado o cálculo do NMP (APHA, 1978).

Na determinação de bactérias coliformes de origem fecal, utilizou-se também da técnica do NMP. Tubos com formação de gás no caldo BVB, foram inoculados tubos contendo caldo EC. Após incubação a $44,5^{\circ}\text{C}/48$ horas, determinava-se o NMP. A partir de tubos positivos em caldo EC, foram inoculadas placas contendo ágar eosina azul de metileno (EMB) por meio da técnica de esgotamento em superfície e após incubação a $35^{\circ}\text{C}/24-48$ horas, colônias típicas de *Escherichia coli*, foram submetidas a testes bioquímicos como: produção de indol, produção de ácidos, produção de acetilmetilcarbinol e utilização do citrato (IMV_1C) (ICMSF, 1978).

Na contagem de *Staphylococcus aureus* a enumeração foi por plaqueamento direto, utilizando-se como meio de cultivo o ágar Baird-Parker, com incubação a $35^{\circ}\text{C}/48$ horas. Foram selecionadas colônias típicas e submetidas aos testes bioquímicos de catalase, coagulase e DNase (ICMSF, 1978).

Na pesquisa de *Salmonella* foram utilizadas alíquotas de 25 ml de amostras de leite, que foram colocadas em 225 ml de caldo de enriquecimento seletivo para *Salmonella*. Um frasco contendo caldo selenito-cistina e outro contendo caldo tetracionato adicionado de 1,25 ml de solução de verde brilhante a 0,1% e 2,5 ml de solução de iodo, sendo a incubação realizada a 43°C por 24-48 horas. Após incubação foram feitas semeaduras em superfície de placas contendo ágar SS e ágar VB e incubadas a $35^{\circ}\text{C}/24-48$ horas.

Como não houve crescimento de colônias com características morfológicas de bactérias não fermentadoras de lactose, não se realizou o isolamento de colônias suspeitas e assim sendo não foram utilizadas as provas bioquímicas diferenciais, para a identificação do gênero de bactérias pesquisado (APHA, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1, 2 e 3 encontram-se os resultados das análises microbiológicas de leites produzidos em lactários de hospitais da cidade de Fortaleza.

Como não existe legislação com relação aos padrões de leite produzido em lactários no Brasil, os valores neste trabalho foram comparados com os padrões microbiológicos vigentes para os leites A, B e C estabelecidos pelo Ministério da Saúde.

Uma das legislações ao leite no Brasil é estabelecida pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, SIPA 1984, BRASIL, SIPA 1991), que determina normas técnicas e higiênico-sanitárias para a produção de leite tipo A e B e estabelece padrão de identidade e qualidade para o leite pasteurizado tipo C (BRASIL, SIPA 1991).

Outra legislação é a portaria da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, DINAL 1978) que estabelece os padrões microbiológicos para o leite tipo A, B, C e reconstituído pasteurizados.

Segundo esta portaria, o leite pasteurizado tipo A pode apresentar uma contagem de microorganismos aeróbios mesófilos de até 2000 ufc/ml, no máximo um coliforme total por ml e ausência de coliformes fecais.

O leite pasteurizado tipo B pode apresentar uma contagem de microorganismos aeróbios mesófilos de até 80.000 ufc/ml, no máximo quatro coliformes totais e no máximo 1 coliforme fecal por ml.

Já os leites tipo C e reconstituído podem apresentar uma contagem padrão de 300.000 e 200.000 ufc/ml, respectivamente. No máximo 10 coliformes totais por ml e coliformes fecais no máximo 2 por ml do produto, em ambos. A pesquisa de **Salmonella** deve ser negativa, ou seja, não é permitida a presença de qualquer sorotipo desse microorganismo.

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação. Sua presença em grande número sugere: matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene inadequada na produção e condições inadequadas de tempo/temperatura durante a produção ou a conservação dos alimentos, ou uma combinação destas características (SIQUEIRA, 1995).

No presente trabalho, pode-se constatar, quanto ao padrão de bactérias mesófilas, uma oscilação de < 10 a $3,8 \times 10^7$ ufc/ml, sendo que 50% das amostras tiveram sua contagem fora do limite permitido para o leite tipo A. 45% das amostras apresentaram contagem de bactérias mesófilas acima dos limites estabelecidos para o leite tipo B, C e reconstituído.

Conforme a tabela 3, 45% das amostras continham entre 10^5 e 10^8 ufc/ml, sendo consideradas, portanto, como alimentos em condições higiênicas insatisfatórias, tornando-se ainda mais grave pelo fato de o consumidor ser a criança enferma.

Ainda referente à contagem de bactérias mesófilas, pode-se verificar que 100% das amostras do hospital A e 100% das amostras do hospital B são consideradas do tipo A. 20% das amostras do hospital C enquadram-se na classificação tipo B, enquanto que as demais deste hospital (80%) e 100% das amostras do hospital D ultrapassam os limites tolerados para o leite tipo C.

Analisando-se a tabela 2 no que se refere às medianas das contagens padrões, pode-se observar a grande variação, oscilando de < 10 ufc/ml para os hospitais A e B e $3,2 \times 10^7$ ufc/ml para o hospital D, o que mostra uma grande diferença em termos de qualidade entre estes hospitais.

O padrão de contagem de bactérias mesófilas em mamadeiras preparadas em lactários, estabelecidos pela Associação Americana de Hospitais, é de no máximo 25 ufc/ml (AAH, 1971).

A pesquisa de coliformes é utilizada para avaliar as condições higiênicas, sendo que altas contagens sugerem contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou contaminação durante o processamento ou estocagem, enquanto que o índice de coliformes fecais é usado como indicador de contaminação fecal e sugere a presença de microorganismos patogênicos (MOSSEL, 1984).

Com relação à determinação de coliformes totais, comparando-se os resultados obtidos (tabela 1) com os padrões do Ministério da Saúde para os leites tipo A, B, C e reconstituído, 100% das amostras do hospital A e 100% do hospital B seriam consideradas tipo A. Já as amostras dos hospitais C e D seriam insatisfatórias para o consumo.

Segundo a tabela 2, a mediana das contagens de coliformes totais foi > 240 /ml de leite e constatou-se que em apenas dois hospitais (A e B), obtiveram-se valores inferiores a 0,3 coliformes/ml de leite.

A presença de coliformes fecais foi constatada em duas (10%) das amostras, sendo

uma do hospital C e uma do hospital D, caracterizando-as impróprias para consumo.

A presença de **Staphylococcus aureus** nos alimentos é interpretada, em geral, como indicativo de contaminação a partir da pele, boca e das fossas nasais dos manipuladores de alimentos, bem como da limpeza e da sanificação inadequada dos materiais e dos equipamentos. (SIQUEIRA, 1995).

No que concerne à presença de **S.aureus**, todas as amostras do produto apresentaram-se negativas, estando portanto dentro do padrão estabelecido pelo Ministério da Saúde.

A presença de **Salmonella** nos alimentos é associada a uma contaminação a partir do homem ou animais. Atualmente considera-se uma das fontes mais importantes de **Salmonella** a casca do ovo, os ovos líquidos, congelados ou em pó. Elas se disseminam através de ratos e moscas que, com suas fezes, contaminam os alimentos. O manejo de alimentos em grande escala tende a aumentar a disseminação. As rações animais, principalmente as obtidas de subprodutos de carnes e pescado, podem transmitir **Salmonella** às aves e animais, e estes alimentos, quando consumidos pelo homem, podem causar enfermidade. Ainda um risco a mais derivado da presença de **Salmonella** nos alimentos é que os manipuladores desses alimentos contaminados se convertem em portadores.

No presente trabalho todas as amostras apresentaram-se negativas, no que se refere à pesquisa de **Salmonella**, seguindo o padrão do Ministério da Saúde.

CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos das análises microbiológicas, pode-se chegar às seguintes conclusões:

- 50% das amostras foram classificadas como leite tipo A, 5% como tipo B e 45% ultrapassaram os limites tolerados pelo Ministério da Saúde para o leite tipo C.

- Embora se utilizem importantes meios de eliminação de microorganismos das formulações produzidas no lactário, tais como a desinfecção química à base de hipoclorito de sódio ou a autoclavagem das mamadeiras, não se podem dispensar cuidados básicos de higiene, tanto do lactário em si, como dos manipuladores de alimentos, da qualidade da água usada, do uso dos aparatos por parte dos lactaristas, bem como da técnica correta de preparo, objetivando produzir alimentos de boa qualidade microbiológica. Isto pode ser demonstrado pelo observado nos hospitais A e B, que se preocupam com todo o processo de produção do leite até o momento da distribuição do mesmo. Por outro lado, os hospitais C e D, embora realizem alguma forma de desinfecção e esterilização das mamadeiras, necessitam aplicar mais de perto cuidados básicos de higiene no lactário, pois pode-se constatar uma alta contagem de bactérias mesófilas, de coliformes totais e até presença de coliformes fecais.

- O lactário, dentro da unidade hospitalar que forneça alimentação à criança, deve ser considerado uma área imprescindível, pois pode-se constatar, verificando os dados obtidos do hospital C, que, embora utilizasse o hipoclorito de sódio na desinfecção das mamadeiras, sua contagem de bactérias mesófilas e de coliformes totais apresentou-se alta e ocorreu presença de coliformes fecais. É importante ressaltar que este hospital prepara sua formulações lácteas na mesma área de manipulação de carnes e vegetais, por ausência de lactário.

Entretanto, mesmo havendo lactário na unidade hospitalar, torna-se indispensável a luta constante por parte dos responsáveis por ele, no sentido de fazer cumprir os "procedimentos indispensáveis no lactário" mencionados no presente trabalho.

Em Fortaleza, dos 57 hospitais cadastrados na Secretaria de Saúde do Estado, conforme o Núcleo de Informação e Estatística, 27 atendem à criança, porém somente 7 (26%) possuem lactário.

TABELA 1

CONTAGEM DE BACTÉRIAS MESÓFILAS, DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS, DE COLIFORMES TOTAIS, COLIFORMES FECAIS E PESQUISA DE SALMONELA EM AMOSTRAS DE LEITE DE LACTÁRIOS EM QUATRO HOSPITAIS DO MUNICÍPIO DE FORTALEZA.

HOSPITAIS	AMOSTRA N°	BACTÉRIAS MESÓFILAS UFC	S.AUREUS UFC/ML	COL. TOTAIS NMP/ML	COL. FECAIS NMP/ML	PESQUISA DE SALMONELLA
A	1	< 10	-	> 0,3	-	-
	2	< 10	-	> 0,3	-	-
	3	< 10	-	> 0,3	-	-
	4	< 10	-	> 0,3	-	-
	5	< 10	-	> 0,3	-	-
B	1	< 10	-	> 0,3	-	-
	2	180	-	> 0,3	-	-
	3	< 10	-	> 0,3	-	-
	4	< 10	-	> 0,3	-	-
	5	< 10	-	> 0,3	-	-
C	1	$5,8 \times 10^5$	-	> 240	-	-
	2	$1,6 \times 10^6$	-	> 240	0,3	-
	3	$1,8 \times 10^4$	-	> 240	-	-
	4	$1,6 \times 10^6$	-	> 240	-	-
	5	$2,9 \times 10^6$	-	> 240	-	-
D	1	< 10	-	> 240	0,3	-
	2	< 10	-	> 240	-	-
	3	< 10	-	> 240	-	-
	4	< 10	-	> 240	-	-
	5	< 10	-	> 240	-	-

TABELA 2
 VALORES MÍNIMOS, MÁXIMOS E MEDIANAS DAS CONTAGENS DE BACTÉRIAS MESÓFILAS,
 COLIFORMES TOTAIS E COLIFORMES FECAIS, EM AMOSTRAS DE LEITE DE QUATRO HOSPITAIS DO
 MUNICÍPIO DE FORTALEZA.

CONTAGENS	VALORES	HOSPITAIS			
		A	B	C	D
Mesófilas UFC/ml	Mínimo	<10	<10	$1,8 \times 10^4$	$2,0 \times 10^7$
	Máximo	<10	180	$2,9 \times 10^6$	$3,8 \times 10^7$
	Mediana	<10	<10	$5,8 \times 10^5$	$3,2 \times 10^7$
Coliformes totais NMP/ml	Mínimo	<0,3	<0,3	>240	>240
	Máximo	<0,3	<0,3	>240	>240
	Mediana	<0,3	<0,3	>240	>240
Coliformes totais NMP/ml	Mínimo	-	-	0,3	0,3
	Máximo	-	-	0,3	0,3
	Mediana	-	-	0,3	0,3

TABELA 3

DISTRIBUIÇÃO EM CLASSES DAS 20 AMOSTRAS DE LEITE EXAMINADO SEGUNDO CONTAGEM DE BACTÉRIAS MESÓFILAS POR ML.

BACTÉRIAS MESÓFILAS UFC/ml	AMOSTRAS DE LEITE	
	Nº	%
0 - 10	9	45,0
10 - 10 ²	-	0
10 ² - 10 ³	1	5,0
10 ³ - 10 ⁴	-	0
10 ⁴ - 10 ⁵	1	5,0
10 ⁵ - 10 ⁶	1	5,0
10 ⁶ - 10 ⁷	3	15,0
10 ⁷ - 10 ⁸	5	25,0
TOTAL	20	100,0

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE HOSPITAIS. **Funcionamento e planejamento do lactário**, São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 1971.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2 ed. Washington D.C M.L.S peak, 1984.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Divisão Nacional de Vigilância sanitária de alimentos, Portaria nº 01. **Diário Oficial**, Brasília, 28 de janeiro 1987, p. 2.197-220.
- BRASIL. Secretaria de Inspeção do Produto Animal. Portaria nº 17 de 29 de outubro de 1984. **Diário Oficial**, Brasília, 31 de novembro de 1984.
- BRASIL. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Portaria nº 08 de 26 de junho de 1984, **Diário Oficial**, Brasília, 11 de julho de 1984.
- BRASIL. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. **Resolução CIPOA** nº 005/91 de 19 de novembro de 1991.
- BUSANI, S. F. B. **Leite pasteurizado - sua qualidade desde a fonte de produção**. São Paulo. UNICAMP, 1989.
- CARDOSO, W. M. **Análise microbilógica de alimentos** - 2ª ed. Rio de Janeiro. MERCK. 1989.
- CHEFTEL, J. C. C. H. **Introducion a la bioquimica y tecnologia de los alimentos**, 1976.
- DI SALVO, G. W. **Desoxirribonuclease and coagulase activity of micrococci**. **Med. Techn. Bull.**, nº 9, p.191-6. 1958.
- FAZIO, M.I.et al. **Aspectos administrativos do lactário**. R. Hosp. Adm. Saúde. São Paulo. v. 10. nº39, 1986.
- HAND, J. C., GREENBORG, A. E. & TARAS, M. J. Standard total coliform M. P. N. Tests. p.916. In: **Standad methods for the examination of water and waster** 14th. ed. APHA. Washington D.C. 1976.
- ICMSF- INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microrganisms in food I.Their significance and methods of enumeration**. 2 nd. ed. Toronto.433p.1978.
- MOSSEL, D. S., QUEVEDO, F. Control **microbiologico de los alimentos**. Univ. Nac. Mayor de San Marcos (série) de monografias de CLEIBA 1. Lima. 1967.
- SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos** - Agroindústria de alimentos, Rio de Janeiro, EMBRAPA, 1995.
- BIEZIERS, M.M. E FRETZ, A. **Coordenacao de Motora. Aspectos Mecanicos de Organizacao e Aprendizagem da Motora**. Organizacao e Aprendizagem da Motora. Editora Sarant. SP. 1982.