

XII ENCONTRO DE EXTENSÃO, DOCÊNCIA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA (EEDIC)

CONTAMINAÇÃO NA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE HUMANO

Sandna Larissa Freitas dos Santos¹; Hérick Hebert da Silva Alves¹; Karla Bruna Nogueira Torres Barros²; Izabel Cristina Justino Bandeira²

¹Discentes do Curso de Farmácia do Centro Universitário Católica de Quixadá;
E-mail: sandy.lary@hotmail.com

²Docentes do curso de Farmácia do Centro Universitário Católica de Quixadá;
E-mail: izabelbandeira@fcrs.edu.br

RESUMO

No Banco de Leite Humano a qualidade dos produtos processados, estocados e distribuídos deve ser parte de um sistema integrado que permeie todas as etapas, incluindo as análises laboratoriais. A pesquisa tem como objetivo verificar o índice de contaminação microbiológica em leites humanos doados ao Banco de Leite do Hospital e Maternidade Jesus Maria e José no município de Quixadá-CE. Trata-se de um estudo do tipo descritivo, transversal, retrospectivo, consistindo em uma abordagem quantitativa. Foram incluídos os resultados dos testes microbiológicos dos leites humanos doados referente ao período de janeiro a setembro de 2016. O total de amostras doadas foi de 712 leites. A contaminação microbiológica foi evidenciada nos meses de janeiro 1 (0,14%) amostra, abril 3 (0,42%) amostras, maio 2 (0,28%) e agosto 3 (0,42%), e que todas elas foram realizadas em triplicatas e descartadas. A acidez de Dornic elevada foi visto em todos os meses, sendo que abril 11(1,5%) e maio 10(1,4%) com maior prevalência. Assim, observa-se a necessidade de desenvolver novas tecnologias capazes de preservar o leite, sem afetar significativamente o seu valor nutritivo e suas propriedades físico-químicas, e que profissionais estejam disponíveis para orientação adequada na coleta e armazenamento dos leites nas residências das mães doadoras, evitando assim o descarte dos mesmos.

Palavras-chave: Contaminação de Alimentos. Análise microbiológica. Leite humano.

INTRODUÇÃO

O leite é um produto secretado pelas glândulas mamárias das fêmeas logo depois do parto. É o alimento essencial e indispensável aos mamíferos, nos primeiros meses de vida, enquanto não podem digerir e assimilar totalmente outras substâncias necessárias. É um fluido aquoso, que serve como referência para estabelecer os requerimentos nutricionais e possui características que lhe atribuem a função de um suplemento de fatores de proteção para o lactente, além de restringir e/ou inibir o crescimento de bactérias patogênicas (SOUSA; SILVA, 2010).

Nas situações em que a mãe apresenta dificuldades para amamentar o filho, o leite coletado e processado em Bancos de Leite Humano (BLH) deve constituir-se como uma alternativa segura que garanta o desenvolvimento nutritivo da criança. Em 2000, no Brasil existiam 151 unidades de BLH, distribuídos em 22 estados, que beneficiavam mais de 80 mil crianças prematuras e de baixo peso (BRASIL, 2007).

O problema mais importante dos bancos de leites é o controle bacteriológico do leite doado, sendo que o consumo de leite humano contaminado pode ser a causa de doenças neonatais, dentre septicemias, meningites, pneumonias, candidíase neonatal, entre outras. Assim é necessário um estudo microbiológico do leite doado ao Banco de Leite Humano para reduzir a incidência dessas doenças e, conseqüentemente, minimizar os índices de mortalidade infantil (MITSUE, 2010).

Com isso a pesquisa teve como objetivo verificar o índice de contaminação por microrganismo nos leites humanos doados ao banco de leite do Hospital e Maternidade Jesus Maria e José no município de

Quixadá-CE, examinando as técnicas microbiológicas realizadas na unidade e esclarecendo a importância da microbiologia no Banco de Leite Humano.

METODOLOGIA

O presente estudo foi do tipo descritivo, transversal, retrospectivo, consistindo em uma abordagem quantitativa. Foi realizado no Hospital Maternidade Jesus Maria e José (HMJMJ), localizado no município Quixadá – CE no mês de setembro de 2016.

A população foi composta pelos leites humanos doados no banco de leite no Hospital Maternidade Jesus Maria e José (HMJMJ), Quixadá- CE. Incluíram-se os resultados dos testes microbiológicos dos leites humanos doados referente aos meses de janeiro a setembro de 2016. A amostra foi do tipo intencional, pois serão escolhidos apenas os exames que se encaixarem nos critérios de inclusão citados anteriormente.

Os dados de interesse foram obtidos por meio de um formulário, com a descrição dos resultados dos leites analisados, através da positividade na análise microbiológica das amostras. Os dados serão coletados através do formulário e inseridos no banco de dados do software Microsoft Excel para viabilizar o processamento e análise das respostas obtidas. O estudo foi realizado respeitando todos os preceitos éticos, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e aprovado pelo Comitê de Ética do Centro Universitário Católica de Quixadá, através do parecer 1.750.435.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

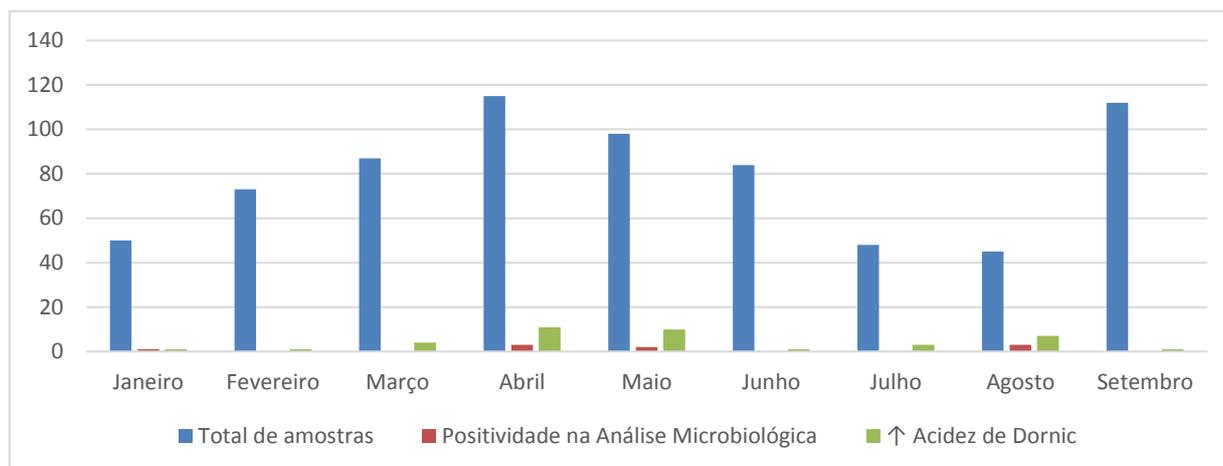
O total de amostras doadas no período referente ao estudo foi de 712 leites. Foi visto que o leite segue um rigoroso procedimento de limpeza, desde a orientação á doadora na coleta em suas residências, no armazenamento, transporte até o manuseio da amostra no laboratório da instituição.

A contaminação microbiológica foi evidenciada nos meses de janeiro 1 (0,14%), abril 3 (0,42%), maio 2 (0,28%) e agosto 3 (0,42%). A acidez de Dornic elevada foi visto em todos os meses, com abril 11 (1,5%) e maio 10 (1,4%) com maior prevalência. O gráfico 01 apresenta um panorama geral dos dados.

A ocorrência da acidez elevada no leite humano pode ter sido causada pelo não monitoramento da temperatura dos congeladores das geladeiras domésticas nas próprias casas das doadoras, uma vez que estes eletrodomésticos possuem apenas termostato, seria impossível afirmar que os frascos com leite humano cru permaneceram com a temperatura recomendada (-18 °C/15 dias). Portanto, é possível que algumas doadoras não tenham mantido os frascos com leite humano dentro dos padrões térmicos estipulados pela ANVISA, mesmo sendo bem orientadas por funcionários do BLH. Ressaltando que a acidez do leite eleva sua probabilidade de contaminação microbiológica.

Na análise físico-química o leite rege no teste de Acidez de Dornic, o qual pode ser classificada como original e desenvolvida. A original resulta da presença de seus constituintes (micelas de caseína e sais minerais, entre os quais se destacam os fosfatos e citratos); e a desenvolvida é consequente ao crescimento bacteriano, da microbiota primária e secundária, com produção de ácido láctico. A acidez desenvolvida do leite humano leva a um aumento da osmolaridade e à diminuição da biodisponibilidade do cálcio e do fósforo presentes. As bactérias fermentam a lactose do leite humano, produzindo ácido láctico (GIUGLIANI, 2002).

Gráfico 01: Total de leites doados mensalmente, positividade na análise microbiológica e Acidez de Dornic nos leites doados no HMJMJ, janeiro a setembro de 2016.



Para a determinação da acidez titulável do leite humano, a solução titulante é o hidróxido de sódio 0,1 N, também conhecido como solução Dornic. Cada 0,01 mL gasto para neutralizar 1 mL de leite humano ordenhado corresponde a 1 °D (um grau Dornic) (ALMEIDA et al., 2012).

O leite humano recém-ordenhado, caso titulado imediatamente após a ordenha, apresenta-se praticamente livre de ácido láctico, e sua acidez total pode ser considerada original, com valores oscilando entre 1 e 4 °D. À medida que a microbiota encontra condições favoráveis para o crescimento, ocorre a produção de ácido láctico e a conseqüente elevação da acidez. Acidez maior ou igual a 8 °D desqualifica o produto para o consumo. Mesmo apresentando valores inferiores a esse limite, a biodisponibilidade do cálcio e a osmolaridade variam de forma inversamente proporcional ao índice de acidez. A determinação da acidez Dornic também serve como parâmetro classificatório para o leite humano (SILVEIRA et al., 2012).

Além disso, na instituição do estudo é realizado o crematócrito, que é utilizado para a determinação do valor calórico do leite. É realizado colocando-se amostras de leite humano dentro de capilares e esses são centrifugados por 15 minutos. Após a centrifugação ocorre a separação creme e soro do leite. O creme ocupa a parte posterior do capilar e corresponde à fração de coloração mais densa. O soro, de aspecto mais ralo, fica abaixo do creme. Com o auxílio de uma régua milimetrada mede-se o comprimento da coluna de creme (mm) e da coluna total de produto (coluna de creme + coluna de soro, expressos em milímetros). De posse destes valores empregam-se fórmulas matemáticas para se determinar o conteúdo energético como Creme%, Gordura% e Kcal/ML.

O leite humano ordenhado destinado ao consumo de recém-nascidos, particularmente os internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), não deve apresentar microrganismos em quantidade ou qualidade capazes de representar agravos à saúde. Dessa forma, é preciso que se disponha de procedimentos capazes de assegurar a qualidade sanitária do leite (SILVEIRA et al., 2012). Na análise microbiológica, a pasteurização representa uma alternativa eficaz, muito conhecida e praticada no campo da tecnologia de alimentos. Trata-se de um tratamento térmico aplicável ao leite humano, que adota como referência a inativação térmica do microrganismo mais termorresistente, a *Coxiella burnetti*. Uma vez observado o binômio temperatura de inativação e tempo de exposição capaz de inativar esse microrganismo, pode-se assegurar que os demais patógenos também estarão termicamente inativados (ALMEIDA et al., 2012).

A pasteurização consiste em um tratamento térmico que visa eliminar bactérias patogênicas e diminuir a população de bactérias deteriorantes. Para tanto há dois tipos de pasteurização. A pasteurização rápida (*High Temperature Short Time-HTST*) estabelece um tempo de 15 segundos e temperatura de 72°C, e a pasteurização lenta (*Low Temperature Large Time-LTLT*), onde o leite precisa atingir 62-63°C durante 30 a 35 minutos (NOBRE et al., 2015). No BLH do HMJMJ é realizada da pasteurização rápida e em seguida é realizada a análise microbiologia.

O controle de qualidade microbiológico do leite humano ordenhado praticado pela Rede BLH segue a lógica preconizada para alimentos, que institui a utilização de microrganismos indicadores de qualidade sanitária. Nesse contexto, o grupo coliforme tem ocupado lugar de destaque, por ser de cultivo simples, economicamente viável e seguro, minimizando a possibilidade de resultados falso-negativos (ALMEIDA et al., 2012). A partir do procedimento clássico para detecção de coliformes totais, foi desenvolvida uma metodologia alternativa que consiste na inoculação de quatro alíquotas de 1 mL cada de leite humano ordenhado pasteurizado, pipetadas de forma independente e inseridas em tubos com 10 mL de caldo bile verde brilhante, a 50 g/L (5% p/v), com tubos de Durham em seu interior. Após a inoculação e incubação a 36 ± 1 °C, a presença de gás no interior do tubo de Durham caracteriza resultado positivo (SILVEIRA et al., 2012).

No estudo de Nobre et al. (2015) realizado com 66 amostras de um banco de leite, 6 (seis) apresentaram em meio SS (Ágar *Salmonella Shigella*) coloração e formação sugestiva de colônias de *Salmonella* spp. e, apenas 1 apresentou em meio SS colônias incolores, sugestivo de presença de *Shigella* spp. As colônias foram submetidas ao teste de coagulase, sendo que 16 dessas amostras apresentaram-se positivas (55,17%), indicando a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo, sugerindo a presença de *Staphylococcus aureus*.

No presente estudo, observa-se uma baixa prevalência da contaminação microbiológica nos leites doados em relação a quantidades de amostra recebidas mensalmente. Deve então, levar em consideração que, a análise microbiológica é realizada após o procedimento de pasteurização, assim, a microbiota que poderia aderir ao leite na coleta ou no manuseio laboratorial, é minimizada após essa técnica.

Sousa e Silva (2010) avaliaram 20 amostras de leite humano quanto aos parâmetros microbiológicos, físico-químicos, bem como as condições higiênico-sanitárias do BLH em relação à qualidade do ar ambiental, recipientes de armazenamento do leite e mãos dos manipuladores. As amostras analisadas apresentaram quantidade de contaminantes deterioradores, que foi reduzida com a pasteurização, contudo os coliformes não foram eliminados. Não foi detectada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Na composição centesimal, foram verificadas grandes perdas do valor energético total, 23,28% nas amostras de leite congelado (LC) e 23,86% das amostras após a pasteurização (LAP), em decorrência da grande perda lipídica. Quanto aos parâmetros de pH, acidez em graus Dornic e umidade, verificaram-se alterações significativas ($p < 0,05$) entre as amostras de leites antes e depois do congelamento e LAP.

Silva (2008) em janeiro de 2008 observou-se que aproximadamente 42% do leite humano recebido pelo BLH apresentaram acidez de 4,0 e 5,0 °D e 22 % com acidez igual ou superior a 8,0 °D.

Assim destacamos a importância da pesquisa microbiológica de amostras do leite não pasteurizado, pois a mesma traz um indicativo da qualidade da antisepsia realizada durante a coleta, armazenamento e transporte do leite, direcionando a necessidade de orientação das mães no procedimento, destacando a importância de uma avaliação do processo, desde o contato inicial com a mãe, até a coleta do leite em sua residência. Todos esses aspectos merecem atenção, pois, ao final irão garantir que quantidades cada vez menores de leite sejam descartadas durante a análise sensorial.

CONCLUSÕES

Com isso, observa-se que a baixa prevalência da contaminação microbiológica nos leites doados reflete positivamente na conduta da doação às crianças, que resulta em maior quantidade de leite para consumo. O monitoramento profissional de todas as variáveis envolvidas, ordenha, congelamento e pasteurização do leite humano e distribuição possibilitaram a identificação de influências positivas e negativas a qualidade do leite humano. A pasteurização é importante para a manutenção da qualidade microbiológica do leite, que elimina a contaminação advinda em qualquer processo até o leite chegar na instituição. Assim, observa-se a necessidade de desenvolver novas tecnologias capazes de preservar o leite, sem afetar significativamente o seu valor nutritivo e suas propriedades físico-químicas.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos**/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2007.
- Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC), 12., 2016, Quixadá. Anais... Quixadá: Centro Universitário Católica de Quixadá, 2016. ISSN: 2446-6042**

MITSUE, S. C. **Perfil socio-econômico e ambiental de doadoras de um Banco de Leite Humano no Vale da Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado.** 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade de Taubaté, 2010.

NOBRE, G. C.; COELHO, R.C.; SILVA, N. M.; DINIZ, Y. B.; GUERRA, R. C. Análise Microbiológica do Leite Humano Cru do Banco de Leite de um Hospital de Araguaína-TO. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v. 8, n. 2, Pub. 8, ago. 2015.

SILVEIRA, L. A. M.; D'AMORIM, M. F. G.; SILVA, V. R. D.; TERRA, A. P. S. Controle Microbiológico do Leite Humano de um Hospital Universitário. **Revista Baiana de Saúde Pública.**, v. 36, n. 3, p. 844-850 jul./set. 2012.

SOUSA, P. P. R.; SILVA, J. A. Monitoramento da qualidade do leite humano ordenhado e distribuído em banco de leite de referência. **Rev. Inst. Adolfo Lutz. São Paulo**, v. 69, n. 1, p. 7-14, 2010.

SILVA, F. F. **Qualidade do leite materno em banco de leite humano: aspectos bacteriológicos, físico-químicos e perfil de amins bioativas.** Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, MG 2008.

GIUGLIANI, E. R. J. Rede nacional de bancos de leite humano do Brasil: tecnologia para exportar. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 183-184, 2002.

ALMEIDA, V. M. et al. Diagnóstico das condições higiênicosanitárias de um banco de leite humano na cidade de São Luís, MA, Brasil. **Alim. Nutr. Araraquara** v. 23, n. 1, p. 95-99, jan./mar. 2012.