

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE MAMADEIRAS
PREPARADAS NO LACTÁRIO DE UM HOSPITAL DE SÃO JOSÉ DO RIO
PRETO - SP

FERNANDO LEITE HOFFMANN *
CRISPIN H. GARCIA-CRUZ *
TÂNIA MARIA VINTURIM *
ANGÉLICA POSSEBON *
ZILDA M.G.S. MAYER **
HELOISA H.M. DE FARIA ***
ANTONIO C.T. GUSSON ***

Amostras de matérias-primas (leites em pó, açúcar, amido, aveia, água e leite C) comumente utilizadas na elaboração de mamadeiras, assim como amostras de mamadeiras já preparadas, obtidas do lactário de um hospital de São José do Rio Preto - SP, foram submetidas à análises microbiológicas. Os resultados obtidos demonstraram significativa contaminação, sendo confirmada inclusive a presença de *Salmonella* sp em 70% das mamadeiras analisadas de imediato (t = 0 hora) e em 90% das analisadas após 24 horas de armazenamento (t = 24 horas). Só a presença de *Salmonella* sp foi suficiente para classificá-las como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" e portanto impróprias para o consumo. A elevada contaminação encontrada pode estar relacionada com algumas das matérias-primas empregadas, com o ambiente ou ainda com o manuseio incorreto.

1 INTRODUÇÃO

O leite tem sido considerado como o alimento humano mais próximo da perfeição, cujo excepcional valor nutritivo decorre de seus componentes principais (proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais e água). Constituindo-se em excelente meio de cultura é facilmente contaminado por bactérias (5, 10, 21, 25).

* Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto - SP.
** Instituto Biológico, Laboratório Regional de São José do Rio Preto (SP).
*** Fundação Faculdade Regional de Medicina, São José do Rio Preto (SP).

O leite contém microrganismos já a partir do momento da ordenha, podendo ser contaminado posteriormente durante o manuseio e processamento.

O conhecimento destes fatos é de grande importância, já que o conteúdo microbiano do leite pode ser usado para avaliar sua qualidade sanitária e condições de sua produção.

Quando o leite está contaminado por bactérias, estas podem se multiplicar e causar alterações químicas, tais como degradação de gorduras, de proteínas ou de carboidratos, que podem tornar o produto impróprio para o consumo. O leite é ainda potencialmente suscetível à contaminação por germes patogênicos. Assim, a microbiota do leite cru, os efeitos durante seu processamento, a sua obtenção em pó, a sua provável recontaminação após reconstituição e o controle de qualidade dos seus derivados devem merecer preocupação constante (14, 22).

Os leites e produtos lácteos, além da deterioração, podem veicular microrganismos causadores de infecções e/ou intoxicações alimentares, por si próprios ou pela incorreta manipulação, principalmente quando preparados inadequadamente e destinados a crianças ou lactentes. Os fatores predisponentes de infecções hospitalares de origem bacteriana estão relacionados aos próprios doentes, aos microrganismos determinantes de tais infecções e ao meio ambiente hospitalar incluindo-se também as atividades médicas, de enfermagem e de auxiliares (15). Além desses fatores devem ser considerados também os manipuladores de alimentos, os quais podem ser portadores de bactérias patogênicas (4).

As infecções que merecem maior atenção nos programas preventivos, são as provocadas por agentes oriundos de várias fontes como, o elemento humano portador, representado pelo pessoal hospitalar, pacientes e visitantes, equipamentos e instrumental. Como é difícil a implantação simultânea de medidas de controle das infecções hospitalares, em todos os setores, os esforços devem ser concentrados nas áreas de risco como: berçário, centro cirúrgico, centro de esterilização, unidade de terapia intensiva e serviço de nutrição. O lactário, dada a sua importância na transmissão de doenças de origem alimentar, deverá receber atenção especial do serviço de nutrição e dietética (4).

Uma das formas de veiculação de agentes patogênicos a recém-nascidos e crianças de baixa faixa etária pode ser o leite das mamadeiras. Segundo a Associação Americana de Hospitais, para a produção e obtenção desse alimento em condições higiênicas satisfatórias, as normas devem ser seguidas independentemente do tamanho do hospital. O sucesso desse sistema depende de um programa integrado de treinamento dos manipuladores de alimentos, bem como da conscientização do corpo médico, da enfermagem e pessoal administrativo (3).

Considerando a importância do leite na alimentação do recém-nascido ou do lactente; a transmissão de doenças por ele veiculadas através de diferentes agentes etiológicos; assim como a inexistência de padrões na legislação brasileira para os leites formulados e/ou produzidos em lactários, justifica-se a realização do presente trabalho objetivando avaliar as condições higiênico-sanitárias dos leites de um lactário através de análises microbiológicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram obtidas do lactário de um hospital de São José do Rio Preto, SP, amostras de matérias-primas (leites em pó, açúcar, amido, aveia, água e leite C) comumente utilizadas na elaboração de mamadeiras, assim como amostras de mamadeiras já preparadas. No laboratório as amostras de matérias-primas, após identificação, foram analisadas de imediato. As amostras de mamadeiras preparadas foram divididas em dois lotes de dez unidades cada um, sendo o primeiro analisado de imediato (tempo = 0 hora), e o segundo, após armazenamento a 10°C por um período de 24 horas (tempo = 24 horas), pois no referido lactário as mamadeiras são preparadas pela manhã, guardadas na geladeira e consumidas até 24 horas após.

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Cada amostra recebeu uma letra para identificação, e quando líquida, foi homogeneizada durante 25 vezes consecutivas. Colocou-se assepticamente 10 g ou 10 mL de amostra em frasco erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada estéril, homogeneizando-se posteriormente (diluição 10^{-1}). A partir da diluição 10^{-1} , procedeu-se à diluição decimal seriada, até 10^{-5} , utilizando-se água destilada estéril como diluente (17).

2.3 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES TOTAIS

Utilizou-se a técnica dos tubos múltiplos, empregando-se caldo lauril sulfato triptose com incubação a 35°C durante 48 horas, sendo o teste confirmativo realizado como discriminado em 2.4 e 2.5 (2, 11).

2.4 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES FECALIS

Foi usada a técnica dos tubos múltiplos, empregando-se caldo EC com incubação a 44,5°C, durante 24 horas (13, 20). Para determinação do número mais provável de coliformes totais e fecais empregou-se a Tabela de Hoskins (1, 2, 16).

2.5 PESQUISA DE *Escherichia coli*

A partir dos tubos contendo caldo EC usados na quantificação de coliformes fecais que apresentaram turvação, com ou sem gás no interior do tubo de Durham, foram semeadas placas de Petri contendo ágar eosina azul de metileno e as colônias suspeitas identificadas utilizando-se testes bioquímicos (12, 19, 26, 27).

2.6 ENUMERAÇÃO DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS

Foi usada a técnica de semeadura em profundidade, empregando-se ágar padrão para contagem, com incubação a 35°C durante 48 horas (13, 16, 20, 26, 27).

2.7 CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS

Das diluições distribuiu-se 1 mL em placas de Petri previamente identificadas, adicionadas de 15 mL de ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico a 10% (pH = 4) e homogeneizou-se. Após solidificação incubou-se a 25°C, por 5 dias. Calculou-se, de acordo com as diluições, as Unidades Formadoras de Colônias (1, 2, 11, 12, 19).

2.8 CONTAGEM DE *Bacillus cereus*

Foi usada a técnica de semeadura em profundidade, empregando-se o ágar seletivo para *Bacillus cereus* (Oxoid - Código CM 617), com incubação a 37°C por 24 - 48 horas. Posteriormente, determinou-se as Unidades Formadoras de Colônias, e realizou-se os testes bioquímicos necessários (1, 16).

2.9 DETERMINAÇÃO DE *S. aureus*

Distribuiu-se 1 mL das diluições, em placas de Petri identificadas, adicionadas de 15 mL de ágar manitol e sal, com homogeneização. Após solidificação foram incubadas a 37°C durante 48 horas e as Unidades Formadoras de Colônias determinadas de acordo com a diluição, sendo realizados os testes bioquímicos pertinentes (1, 11, 27).

2.10 PESQUISA DE *Salmonella* sp

Em 225 mL de caldo lactosado e de água peptonada a 1% foram homogeneizados, respectivamente, 25 g ou 25 mL de produto. Os dois meios de cultura continham 0,5% de Na₂SO₃. Após incubação a 35°C, por 24 horas, 1 mL de cada cultivo foi transferido para 10 mL de caldo tetracionato de Kauffmann e para 10 mL de caldo selenito cistina, incubados a 35°C. Após 24 horas, 48 horas e 5 dias foram feitas semeaduras em placas de Petri contendo ágar SS e ágar verde brilhante,

sendo as colônias suspeitas submetidas a testes bioquímicos e sorológicos (1, 12).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante a análise microbiológica das matérias-primas utilizadas na elaboração das mamadeiras estéril estão demonstrados nas Tabelas 1, 2, 5, 6, 9 e 10.

No Brasil, existem duas legislações em vigor com relações ao leite. Uma está relacionada ao leite desde a produção até sua saída da usina de beneficiamento, que obedece aos padrões fixados pelo Ministério da Agricultura (7, 8, 9), o qual estabelece, através dos Decretos 30.691/52 e 1.255/62 e da Portaria 005/80, os limites quanto à carga microbiana para os leites tipos A, B, C e pasteurizado com conteúdo de gordura de 3,2%. A segunda, adotada pelo Ministério da Saúde (6) desde 1987, dita os padrões vigentes para o produto, na área de comercialização e consumo, estabelecendo os padrões microbiológicos para os leites tipos A, B, C, reconstituído, em pó e farinhas lácteas.

Como não existem padrões nacionais para o leite de lactários, os valores obtidos na presente investigação foram comparados com os padrões microbiológicos vigentes para os leites tipos A e B, (mais exigentes) e também com os padrões para os leites tipo C, reconstituído, em pó e farinhas lácteas, mais tolerantes, fixados pelo Ministério da Saúde (6).

Analisando as Tabelas 1 e 2, observa-se que todas as matérias-primas estavam de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos (6, 24).

Os resultados obtidos durante a análise microbiológica das mamadeiras preparadas, nos tempos = 0 e 24 horas, estão demonstrados na Tabela 3.

A amostra D está em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido somente para o leite A (1 NMP/mL), sendo classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória".

As amostras G e I estão em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido para o leite A (1 NMP/mL) e B (4 NMP/mL), podendo ser classificadas como "produtos sem condições higiênicas insatisfatórias".

A amostra J está em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido para o leite A, sendo classificada como "produto inaceitável para o consumo direto". Esta mesma amostra, quando comparada com os padrões para leite B, leite C e reconstituído (10 NMP/mL), leite em pó e farinhas lácteas (10 NMP/g) foi classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória".

TABELA 1 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES TOTAIS, FECAIS E CONFIRMAÇÃO DE *Escherichia coli* PARA AS DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS (LEITES EM PÓ A, B, C, D, E, e F, AÇÚCAR, AMIDO E AVEIA) UTILIZADAS NO PREPARO DAS MAMADEIRAS

AMOSTRAS	COLIFORMES TOTAIS NMP/g	COLIFORMES FECAIS NMP/g	<i>E. coli</i> CONFIRMATIVO
A	<3	<3	(-)
B	<3	<3	(-)
C	<3	<3	(-)
D	<3	<3	(-)
E	<3	<3	(-)
F	<3	<3	(-)
Açúcar	<3	<3	(-)
Amido	<3	<3	(-)
Aveia	<3	<3	(-)

Padrão Federal (6)

Leite em pó e farinhas lácteas	10/g	1/g	-
Cereais flocados, inflados e/ou laminados	-	ausência em 1 g	-
Amidos, farinhas, féculas e fubá	-	10/g	-
Açúcar cristal, mascavo e refinado	-	-	-

TABELA 2 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES TOTAIS, FECAIS E CONFIRMAÇÃO DE *Escherichia coli* PARA AS DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS (ÁGUA E LEITE C) UTILIZADAS NO PREPARO DAS MAMADEIRAS

AMOSTRAS	COLIFORMES TOTAIS NMP/mL	COLIFORMES FECAIS NMP/mL	<i>E. coli</i> CONFIRMATIVO
Água	<2	<2	(-)
Água fervida	<2 NMP/mL	<2 NMP/mL	(-)
Leite C	<3	<3	(-)
Leite C fervido	<3	<3	(-)

Padrão Estadual (24)

Água	ausência em 100 mL	-	-
Padrão Federal (6)			
Leite C	10/mL	2/mL	-

Todas as amostras analisadas no tempo = 0 hora (100%) apresentaram, para coliformes fecais, o resultado de < 3 NMP/mL, não havendo a confirmação de *E.coli*.

As amostras B*, D*, I* e J* apresentaram-se em desacordo com a legislação em vigor (6) quanto ao padrão estabelecido somente para o leite A, sendo, no caso, classificadas como "produtos em condições higiênicas insatisfatórias". A amostra G* está em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido somente para os leites A e B, sendo assim classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória".

As amostras A* e E* estão em desacordo com a legislação quanto ao padrão para os leites A, B, C, reconstituído, em pó e farinhas lácteas. A amostra A* em relação ao leite A foi classificada como "produto inaceitável para o consumo direto", para leite B, C, reconstituído, em pó e farinhas lácteas, foi classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória". A amostra E* em desacordo com o padrão para leite A foi classificada como "produto impróprio para o consumo" e com relação aos leites B, C, reconstituído, em pó e farinhas lácteas como "produto inaceitável para o consumo direto".

Quanto a coliformes fecais, t = 24 horas, excetuando-se a amostra A* (10%) que apresentou 9 NMP/mL e confirmação para *E. coli*, todas as demais (90%) apresentaram < 3 NMP/mL e não confirmaram *E. coli*. A amostra A* está em desacordo com o padrão estabelecido para os leites A, B, C, reconstituído, em pó e farinhas lácteas, sendo classificada como "produto em condição higiênico-sanitária insatisfatória".

Alguns pesquisadores determinaram a presença de coliformes em leite de um lactário e encontraram números que variaram de > que 1 até > 100/grama. Quanto a *E. coli* os números variaram de zero a > 100/grama do alimento (18). Em outra pesquisa, durante a determinação da contaminação por enterobactérias em berçários no município de São Paulo, já foi relatada a presença de *E. coli* em 11 mamadeiras de 4 berçários, sendo que foram analisadas 71 mamadeiras de 12 berçários. Encontrou-se ainda em uma dessas mamadeiras *S. typhimurium* (23). Alguns autores também constataram a presença de bactérias do gênero *Pseudomonas* em mamadeiras oriundas de lactários de hospitais (25).

Na Tabela 4 classificou-se as mamadeiras preparadas comparando-as com os padrões para diferentes tipos de leite.

Com referência a bactérias aeróbias mesófilas pode ser verificado na Tabela 5, que todas as amostras analisadas (100%) apresentaram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação vigente (6) para leite em pó e farinhas lácteas. Já com relação a bolores e leveduras, somente a aveia (11,1%) estava em desacordo com a legislação para leite em

pó e farinhas lácteas, cereais flocados, inflados e/ou laminados, açúcar cristal, mascavo e refinado, sendo portanto tal amostra classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória". As demais amostras (88,9%) situaram-se dentro dos padrões da legislação.

TABELA 3 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES TOTAIS, FECAIS E CONFIRMAÇÃO DE *Escherichia coli* PARA AS MAMADEIRAS PREPARADAS NO TEMPO = 0 horas (AMOSTRAS A,B,C,D,E,F,G,H,I e J) E TEMPO = 24 horas (AMOSTRAS A*,B*,C*,D*,E*,F*,G*,H*,I* e J*)

AMOSTRAS	COLIFORMES TOTAIS NMP/mL	COLIFORMES FECAIS NMP/mL	<i>E.coli</i> CONFIRMATIVO
A	<3	<3	(-)
A*	23	9	(+)
B	<3	<3	(-)
B*	4	<3	(-)
C	<3	<3	(-)
C*	<3	<3	(-)
D	4	<3	(-)
D*	4	<3	(-)
E	<3	<3	(-)
E*	240	<3	(+)
F	<3	<3	(-)
F*	<3	<3	(-)
G	9	<3	(-)
G*	9	<3	(-)
H	<3	<3	(-)
H*	<3	<3	(-)
I	9	<3	(-)
I*	4	<3	(-)
J	23	<3	(-)
J*	4	<3	(-)

Padrão Federal (6)

Leite A	1/mL	ausência em 1 mL	-
Leite B	4/mL	1/mL	-
Leite C	10/mL	2/mL	-
Leite pasteurizado reconstituído	10/mL	2/mL	-
Leite em pó e farinhas lácteas	10/g	1/g	-

TABELA 4 - CLASSIFICAÇÃO DAS MAMADEIRAS PREPARADAS EM RELAÇÃO AOS DIFERENTES TIPOS DE LEITE, NO TÓCANTE A COLIFORMES TOTAIS

	LEITE A	LEITE B	LEITE C	LEITE RECONSTITUÍDO	LEITE EM PÓ E FARINHAS LÁCTEAS
Produtos em condições higiênicas insatisfatórias	D, G e I (30%) B*, D*, G*, I* e J* (50%)	G, I, e J (30%) A* e G* (20%)	J (10%) A* (10%)	J (10%) A* (10%)	J (10%) A* (10%)
Produtos inaceitáveis para o consumo direto	J (10%)	E* (10%)	E* (10%)	E* (10%)	E* (10%)
Produto impróprio para o consumo	E* (10%)	-	-	-	-

* - Amostras t = 24 horas.

† - Percentual de amostras classificadas dentro do item analisado.

TABELA 5 - ENUMERAÇÃO DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS NAS DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS (LEITES EM PÓ A,B,C,D,E e F AÇÚCAR, AMIDO E AVEIA) UTILIZADAS NO PREPARO DAS MAMADEIRAS

AMOSTRAS	BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS (x 10 ³ UFC/g)	BOLORES E LEVEDURAS (x 10 ³ UFC/g)
A	3	<1
B	0,5	<1
C	<1	<1
D	1,5	1
E	1	7,5
F	<1	5
Açúcar	2,5	<1
Amido	0,5	1,5
Aveia	4	135

Padrão Federal (6)

Leite em pó e farinhas lácteas	5 x 10 ³ /g	10 ³ /g
Cereais flocados, inflados e/ou laminados	-	10 ³ /g
Amidos, farinhas, féculas e fubá	-	10 ³ /g
Açúcar cristal, mascavo e refinado	-	10 ³ /g

Na Tabela 6 pode ser verificado que o leite C estava de acordo com o padrão estabelecido na legislação vigente (6), com relação a bactérias aeróbias mesófilas.

Os resultados obtidos durante a análise microbiológica das mamadeiras preparadas, nos tempos = 0 e 24 horas, estão demonstrados na Tabela 7.

A amostra G em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido somente para o leite A (2x10³ UFC/mL) foi classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória".

TABELA 6 - ENUMERAÇÃO DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS NAS DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS (ÁGUA E LEITE C) UTILIZADAS NO PREPARO DAS MAMADEIRAS

AMOSTRAS	BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS (x 10 ³ UFC/mL)	BOLORES E LEVEDURAS (x 10 ³ UFC/mL)
Água	7	2
Água fervida	0,5	1
Leite C	3570	105,5
Leite C fervido	72	47
Padrão Estadual (24)		
Água	-	-
Padrão Federal (6)		
Leite C	3 x 10 ³ /mL	-

A amostra J além de estar em desacordo com a legislação quanto ao padrão estabelecido para o leite A (classificada como "produto inaceitável para o consumo direto"), também não atendeu aos padrões para o leite B (8x10³ UFC/mL), para leite em pó e farinhas lácteas (5x10³ UFC/g), sendo, em ambos os casos, classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória".

Ainda com relação a contagem de bactérias mesófilas, a Associação Americana de Hospitais (3), em seu padrão estabelece que mamadeiras preparadas em lactário podem conter, no máximo, 25 bactérias/mL de leite. Pelos resultados deste experimento constatou-se que no tempo = 0 hora, 9 (90%) das 10 amostras de leite analisadas revelaram-se impróprias.

Com relação a bolores e leveduras, as amostras B, G, I e J estavam em desacordo com a legislação (6) somente quanto ao padrão estabelecido para leite em pó e farinhas lácteas (10³/g), sendo no caso classificadas como "produtos em condições higiênicas insatisfatórias".

As amostras E*, G*, I*, e J* estavam em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido somente para o leite A (2x10³ UFC/mL), sendo classificadas como "produtos em condições higiênicas insatisfatórias".

TABELA 7 - ENUMERAÇÃO DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS DAS MAMADEIRAS PREPARADAS NO TEMPO = 0 hora (AMOSTRAS A, B, C, D, E, F, G, H, I e J) E TEMPO = 24 horas (AMOSTRAS A*, B*, C*, D*, E*, F*, G*, H*, I*, e J*)

AMOSTRAS	BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS (x 10 ³ UFC/mL)	BOLORES E LEVEDURAS (x 10 ³ UFC/mL)
A	72	41,5
A*	83,5	34,5
B	158	138
B*	200	81,5
C	9	1,5
C*	3,5	3
D	63	50,5
D*	5080	2940
E	33,5	9
E*	220	136
F	8,5	15,5
F*	5,5	9
G	805	365
G*	730	206
H	0,5	3
H*	4,5	9
I	103	126
I*	290	66
J	8500	510
J*	500	490
Padrão Federal (6)		
Leite A	2 x 10 ³ /mL	-
Leite B	8 x 10 ³ /mL	-
Leite C	3 x 10 ³ /mL	-
Leite pasteurizado reconstituído	2 x 10 ³ /mL	-
Leite em pó e farinhas lácteas	5 x 10 ³ /g	10 ³ /g

A amostra D*, além de estar em desacordo com a legislação quanto ao padrão estabelecido para o leite A ("produto inaceitável para o consumo direto") estava também em desacordo com o padrão estabelecido para o leite em pó e farinhas lácteas (5x10³ UFC/g), sendo classificada como "produto em condição higiênica insatisfatória".

As amostras E*, G*, e J* estavam em desacordo com a legislação (6) quanto ao padrão estabelecido somente para o leite em pó e farinhas lácteas (10³/g) sendo no caso

classificadas como "produtos em condições higiênicas insatisfatórias".

A amostra D* também estava em desacordo com a legislação somente para o leite em pó e farinhas lácteas, entretanto, foi classificada como "produto inaceitável para o consumo direto".

A Tabela 8 compara as mamadeiras preparadas com os padrões para diferentes tipos de leite, fornecendo inclusive o percentual de amostras classificadas dentro de cada item analisado.

Com relação a *Bacillus cereus* (Tabela 9), verifica-se que todas as amostras analisadas (100%) apresentaram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação vigente (6) para leite em pó e farinhas lácteas, cereais flocados, inflados e/ou laminados, amidos, farinhas e fubá ($10^1/g$). Já com respeito ao *Staphylococcus aureus* todas as amostras (100%) situaram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação (6) para amidos, farinhas, féculas e fubá (5×10^2 UFC/g). Entretanto, quando utilizado o padrão estabelecido para o leite em pó e farinhas lácteas ($10/g$) as amostras E (7×10^1 UFC/g) e aveia ($5,5 \times 10^1$ UFC/g) situaram-se fora do mesmo (22,2%), sendo ambas classificadas como "produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias".

De todas as amostras analisadas somente nas amostras E, de açúcar e de aveia (33,3%) foi constatada e confirmada a presença de *Salmonella*, sendo tais amostras classificadas como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares e portanto "produtos impróprios para o consumo".

Na Tabela 10 observa-se que todas as amostras analisadas (100%) apresentaram $< 1 \times 10^1$ UFC/mL como resultado para *Bacillus cereus*. Com relação a *Staphylococcus aureus*, excetuando-se o leite C fervido que apresentou $5,9 \times 10^1$ UFC/mL, todas as demais amostras analisadas obtiveram $< 1 \times 10^1$ UFC/mL como resultado.

Verifica-se também que de todas as amostras analisadas (100%), somente na de água e de leite C (50%) foi constatada e confirmada a presença de *Salmonella*, as quais foram classificadas como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" e portanto "produto impróprio para o consumo".

Os resultados obtidos durante a análise microbiológica das mamadeiras preparadas, nos tempos = 0 e 24 horas, estão demonstrados na Tabela 11. Todas as mamadeiras preparadas e analisadas no tempo = 0 hora, (100%) apresentaram como resultado para *Bacillus cereus* $< 1 \times 10^1$ UFC/mL, estando portanto dentro do padrão ($10^1/g$) estabelecido na legislação (6) para leite em pó e farinhas lácteas.

TABELA 8 - CLASSIFICAÇÃO DAS MAMDEIRAS PREPARADAS EM RELAÇÃO AOS DIFERENTES TIPOS DE LEITE, NO TOCANTE A BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E BOLORES E LEVEDURAS

	LEITE A	LEITE B	LEITE C	LEITE RECONSTITUÍDO	LEITE EM PÓ E FARINHAS LÁCTEAS
Bactérias Aeróbias Mesófilas					
Produtos em condições higiênicas insatisfatórias	G (10%)	J (10%)	-	-	J (10%)
Produtos inaceitáveis para o consumo direto	E*, G*, I* e J* (40%) J (10%) D* (10%)	-	-	-	D* (10%)
Bolores e Leveduras					
Produtos em condições higiênicas insatisfatórias	-	-	-	-	B, G, I e J (40%) E*, G* e J* (30%)
Produtos inaceitáveis para o consumo direto	-	-	-	-	D* (10%)

* - Amostras t = 24 horas

§ - Percentual de amostras classificadas dentro do item analisado

TABELA 9 - RESULTADOS DA CONTAGEM DE *Bacillus Cereus*, DETERMINAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* E PESQUISA DE *Salmonella sp* PARA AS DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS (LEITES EM PÓ A,B,C,D,E e F, AÇÚCAR, AMIDO E AVEIA) UTILIZADAS NO PREPARO DAS MAMADEIRAS

AMOSTRAS	<i>Bacillus cereus</i> (x 10 ³ UFC/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (x 10 ³ UFC/g)	<i>Salmonella</i> presença em 25 g
A	<1	<1	(-)
B	<1	1	(-)
C	<1	1	(-)
D	<1	<1	(-)
E	<1	7	(+)
F	<1	<1	(-)
Açúcar	<1	<1	(+)
Amido	<1	<1	(-)
Aveia	<1	5,5	(+)
Padrão Federal (6)			
Leite em pó e farinhas lácteas	10 ³ /g	10/g	ausência em 25 g
Cercais flocados, inflados e/ou laminados	10 ³ /g	-	ausência em 25 g
Amidos, farinhas, fêculas e fubá	10 ³ /g	5 x 10 ² /g	ausência em 25 g
Açúcar cristal, mascavo e refinado	-	-	ausência em 25 g

TABELA 10 - RESULTADOS DA CONTAGEM DE *Bacillus Cereus*, DETERMINAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* E PESQUISA DE *Salmonella sp* PARA DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS (ÁGUA E LEITE C) UTILIZADAS NO PREPARO DAS MAMADEIRAS

AMOSTRAS	<i>Bacillus cereus</i> (x 10 ³ UFC/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> (x 10 ³ UFC/mL)	<i>Salmonella sp</i> presença em 25 mL
Água	<1	<1	(+)
Água fervida	<1	<1	(-)
Leite C	<1	<1	(+)
Leite C fervido	<1	5,9	(-)
Padrão Estadual (24)			
Água	-	-	-
Padrão Federal (6)			
Leite C			ausência em 25 mL

TABELA 11 - RESULTADOS DA CONTAGEM DE *Bacillus Cereus*, DETERMINAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* sp PARA AS MAMADEIRAS PREPARADAS NO TEMPO = 0 HORA (AMOSTRAS A, B, C, D, E, F, G, H, I e J) E TEMPO = 24 HORAS (AMOSTRAS A*, B*, C*, D*, E*, F*, G*, H*, I* e J*)

AMOSTRAS	<i>Bacillus Cereus</i> (x 10 ² UFC/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> (x 10 ² UFC/mL)	<i>Salmonella</i> presença em 25 mL
A	<1	12	(+)
A*	<1	<1	(+)
B	<1	15,5	(+)
B*	<1	12,5	(+)
C	<1	<1	(-)
C*	<1	<1	(+)
D	<1	0,5	(+)
D*	<1	2	(+)
E	<1	0,5	(+)
E*	<1	4,5	(+)
F	<1	1,5	(-)
F*	<1	8,5	(+)
G	<1	9,5	(+)
G*	<1	4,5	(+)
H	<1	0,5	(-)
H*	<1	<1	(-)
I	<1	0,5	(+)
I*	<1	<1	(+)
J	<1	0,5	(+)
J*	<1	4	(+)

Padrão Federal (6)

Leite A	-	-	ausência em 25 mL
Leite B	-	-	ausência em 25 mL
Leite C	-	-	ausência em 25 mL
Leite pasteurizado reconstituído	-	-	ausência em 25 mL
Leite em pó e farinhas lácteas	10 ³ /g	10 ³ /g	ausência em 25 g

Com referência a *Staphylococcus aureus*, verifica-se desacordo com o padrão (10/g) estabelecido na legislação, para leite em pó e farinhas lácteas, somente para as amostras A, B, F e G. As amostras A e B foram classificadas como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares, portanto "produtos impróprios para o consumo"; e as amostras F e G foram consideradas "produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias".

Já a presença de *Salmonella* foi constatada e confirmada para as amostras A, B, D, E, G, I e J, classificadas como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" e portanto "produtos impróprios para o consumo", por não atenderem ao padrão estabelecido na legislação (6) para leites A, B, C, pasteurizado reconstituído (ausência em 25 mL) e para leite em pó e farinhas lácteas (ausência em 25 g).

Todas as mamadeiras preparadas e analisadas no tempo = 24 horas 100% apresentaram como resultado para *Bacillus cereus* $1 < 1 \times 10^1$ UFC/mL, estando portanto dentro do padrão ($10^1/g$) estabelecido na legislação (6) para leite em pó e farinhas lácteas.

Ainda com referência a *Staphylococcus aureus*, verifica-se que estavam em desacordo com o padrão (10/g) para leite em pó e farinhas lácteas, as amostras B*, D*, E*, F*, G* e J*. A amostra B* foi classificada como "produto potencialmente capaz de causar toxinfecção alimentar" e portanto "produto impróprio para o consumo" e as amostras D*, E*, F*, G* e J* classificadas como "produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias".

A presença de *Salmonella* foi constatada e confirmada para as amostras A*, B*, C*, D*, E*, F*, G*, I*, e J*, sendo as mesmas classificadas como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" portanto "produtos impróprios para o consumo", por não atenderem ao padrão estabelecido na legislação (6) para leites A, B, C, pasteurizado reconstituído (ausência em 25 mL) e para leite em pó e farinhas lácteas (ausência em 25 g).

De maneira geral, os resultados obtidos para mamadeiras preparadas, t = 24 horas, foram iguais ou superiores às mamadeiras analisadas em t = 0 hora.

A Tabela 12 compara mamadeiras preparadas com os padrões para diferentes tipos de leite, fornecendo inclusive o percentual de amostras classificadas dentro de cada item analisado.

TABELA 12 - CLASSIFICAÇÃO DAS MAMADEIRAS PREPARADAS EM RELAÇÃO AOS DIFERENTES TIPOS DE LEITE, NO TOCANTE A *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp*

	LEITE A	LEITE B	LEITE C	LEITE RECONSTITUÍDO	LEITE EM PÓ E FARINHAS LÁCTEAS
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Produtos em condições higiênic-sanitárias insatisfatórias	-	-	-	-	F e G (20%) D*, E*, F*, G* e J* (50%)
Produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares †	-	-	-	-	A e B (20%) B* (10%)
Produtos impróprios para o consumo	-	-	-	-	-
<i>Salmonella sp</i>					
Produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares †	-	-	-	-	-
Produtos impróprios para o consumo	-	-	-	-	-
			A, B, D, E, G, I e J (70%) A*, B*, C*, D*, E*, F*, G* e J (90%)		

* - Amostras T = 24 horas.

† - Percentual de amostras classificadas dentro do item analisado.

Partindo-se do princípio de que algumas amostras analisadas foram preparadas com leite em pó, podia-se esperar resultados melhores, isto é, desde que a água de reconstituição utilizada fosse fervida, os utensílios limpos, os manipuladores estivessem com as suas mãos limpas e usando roupas adequadas.

No lactário visitado não era realizada a esterilização das mamadeiras prontas, como recomenda a Associação Americana de Hospitais (3). Constatou-se também, que o leite era reconstituído em vasilhas de plástico ou alumínio e distribuído nas mamadeiras.

Deve-se salientar que as amostras de leite do lactário foram coletadas em frascos estéreis e não das mamadeiras. Assim, se o conjunto mamadeira, bico e protetor não estivesse convenientemente limpo e desinfetado, a quantidade de microrganismos poderia ser maior.

Segundo a Associação Americana de Hospitais (3) os envases a serem empregados para distribuição do leite deverão sofrer prévia higienização e, posteriormente adição do leite, tanto o bico quanto o protetor deverão ser aquecidos a temperatura que os tornem seguros sob o ponto de vista microbiológico. Entretanto, o êxito no emprego desse processo depende do uso de técnicas de higienização adequadas e seguras. Resíduos de materiais deixados nos envases, sem dúvida, serão fonte de contaminação para o alimento a ser posteriormente distribuído. O tratamento final poderá ser feito através de dois procedimentos distintos: aquecimento a temperatura de 110°C com 7 libras de pressão, durante 10 minutos ou empregando-se banho-maria a temperatura de 100°C durante 20-30 minutos. A utilização do processo de autoclavagem é mais eficiente quanto à qualidade sanitária do alimento tratado, além de manter o seu valor nutritivo. Imediatamente após o tratamento térmico, as mamadeiras deverão ser resfriadas e mantidas sob refrigeração.

O desenvolvimento de microrganismos, observado após a realização das análises microbiológicas das mamadeiras preparadas, possivelmente está relacionado com as condições higiênicas do ambiente e/ou do pessoal, uma vez que, foi constatada a presença desses microrganismos, principalmente, quando realizadas as amostragens microbiológicas do ar e das pessoas envolvidas na manipulação.

4 CONCLUSÃO

A significativa contaminação das mamadeiras, com a confirmação inclusive da presença de *Salmonella* sp, permite classificá-las como impróprias para o consumo.

Considerando estes resultados, seria de grande valor o estabelecimento de normas para o preparo e conservação de

leites, em lactário de hospitais, creches e outros estabelecimentos, a serem utilizados na alimentação de recém-nascidos ou crianças, assim como de padrões microbiológicos para este tipo de alimento.

Abstract

Samples of raw materials (powdered milk, sugar, starch, oatmeal, water and milk type C - a low credit milk) commonly used in baby bottles as well as samples of milk bottles already prepared were collected from a milk nursery in the city of São José do Rio Preto - SP (Brazil), and submitted to the microbiological analysis. The results showed a significant contamination. It was ascertained the presence of *Salmonella* sp in 70% of the milk bottles analysed immediately after preparation (time = 0 hour) and in 90% of samples analysed after a 24 hour storage (time = 24 hours). The presence of *Salmonella* sp is already enough to classificate the milk bottles as "products potentially causing foodborne intoxication", and therefore, "improper for consumption". The high level of contamination is more likely to be related with some of the raw materials used, environment or even wrong handling.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2.ed. Washington, D.C., 1984.
- 2 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of dairy products*. 4. ed. Washington, D.C., 1978.
- 3 ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE HOSPITAIS. *Funcionamento e planejamento do lactário*. São Paulo : Faculdade de Saúde Pública, 1971.
- 4 BITTENCOURT, B.B., MELLO, C.G. A infecção hospitalar e o serviço de nutrição. *Revista Paulista Hospitalar*, v. 20, n. 12, p. 28-31, 1972.
- 5 BORGES, M. de F., BRANDÃO, S.C.C., PINHEIRO, A.J.R. Efeito bactericida do peróxido de hidrogênio sobre *Salmonella* em leite destinado a fabricação de queijos. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 145-149, abril/junho, 1989.
- 6 BRASIL. Portaria n. 001 de 28 de janeiro de 1987. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]*, Brasília, 25 de fevereiro de 1987.
- 7 BRASIL. Decreto n. 1.225 de 25 de junho de 1962. *Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]*, Brasília, 4 de julho de 1963.

- 8 BRASIL. Decreto n. 30.961 de 29 de março de 1952. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Rio de Janeiro, 7 de julho de 1952.
- 9 BRASIL. Secretaria de Inspeção do Produto Animal. Portaria n. 005 de 24 de abril de 1980. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 25 de abril de 1980, p.7349-7352.
- 10 COLLINS, E.B'. Preservatives in dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 54, n. 1, p. 148-152, 1971.
- 11 DONELLY, C.B., LESLIE, J.E., BLACK, L.A., LEWIS, K.H. Serological identification of enterotoxigenic staphylococci from cheese. **Applied Microbiology**, v. 15, n. 1, p. 1382-1387, 1967.
- 12 EDWARDS, P.R., EWING, W. H. **Identification of enterobacteriaceae**. 3. ed. Mineapolis : Burgess, 1972.
- 13 HARRIGAN, W. F., Mc CANCE, M.E. **Laboratory methods in food dairy microbiology**. London : Academic Press, 1976. 536 p.
- 14 HUP, G. Microbiological quality of dried milk products. Good manufacturing practice. **Deutsche Milchwirtschaft**, v. 39, n. 25, p. 833-835, 1988.
- 15 HUTZLER, R.U. Fatores predisponentes de infecção hospitalar. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, v. 28, p. 147-152, 1973.
- 16 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. 2. ed. Toronto : University of Toronto Press, 1978. v. 1
- 17 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microbial ecology of foods**. New York : Academic Press, 1980. v. 2
- 18 KOPLEMAN, B.J., MURILLO, A., CASTRO FILHO, A. Desenvolvimento de microrganismos em leite reconstituído em lactário: comparação entre um leite biologicamente acidificado e um leite não acidificado. **Revista Paulista de Medicina**, v. 86, n. 1, p. 23-32, 1975.
- 19 MARTH, E.E. **Standard methods for the examination of dairy products**. 14. ed. Washington : APHA, 1978. 416 p.

- 20 BRASIL. Ministério Da Agricultura. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília, 1981. (Métodos microbiológicos)
- 21 NADER FILHO, A., ROSSI Jr., O.D., SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos em leite de vaca com mastite sub-clínica. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 369-373, out./dez. 1988.
- 22 PELAEZ MARTINEZ, C. Control microbiological quality of finished milk products. *Revista Espanhola de Lenheira*, v. 3, n. 1, p. 21, 23-29, 1985.
- 23 PESSOA, G.V.A. **Contaminação por enterobactérias em berçários do Município de São Paulo**. São Paulo, 1978. Tese de Livre Docência - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
- 24 SÃO PAULO (Estado). Decreto n. 12.486 de 20 de outubro de 1978. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 de outubro de 1978.
- 25 SESSA, E., FURLANETTO, S.M.P. Condições bacteriológicas de amostras de leite de lactários obtidas em hospitais. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 189-197, abril/junho, 1990.
- 26 SILVA JÚNIOR, E.A. **Microorganismos e bacilos Gram-negativos psicrotróficos em amostras de carne fresca moída comercializada na cidade de São Paulo**. São Paulo, 1985. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade São Paulo.
- 27 SPECK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. [Washington] : A.P.H.A., 1976. 702 p.