

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE HUMANO CRU DO BANCO DE LEITE DE UM HOSPITAL DE ARAGUAÍNA-TO

Gabriela Carvalho Nobre¹, Rachel Carvalho Coelho¹, Naara Martins da Silva¹,
Yasmin Bione Diniz¹, Ricardo Consiglieri Guerra²

Investigar as amostras de leite humano descartadas pelo banco durante análise inicial – quanto à contaminação global por microrganismos aeróbios estritos e facultativos viáveis; Verificar a contaminação do leite humano recebido no banco de leite humano de Araguaína quanto à presença de coliformes totais e termotolerantes; Analisar a contaminação do leite por *Salmonella* spp; Analisar a contaminação do leite por *Staphylococcus* coagulase positiva. Através de um total de 66 amostras de LH, provenientes do BLH de Araguaína, foram submetidas a avaliação dos seguintes parâmetros indicadores de contaminação: Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios Estritos e Facultativos Viáveis, NMP de Coliformes Totais e Termotolerantes, Pesquisa de *Salmonella* spp. e pesquisa de *Staphylococcus* coagulase-positivo. Das 66 amostras foram obtidas 23 amostras positivas na prova presuntiva. Dentre essas, 19 foram positivas na prova confirmativa para coliformes totais, o que dá aproximadamente 29% das amostras totais. Já na prova confirmativa para termotolerantes, 12 amostras foram positivas, totalizando aproximadamente 18% das amostras totais, *Salmonella* ssp: 6 apresentaram em meio SS coloração e formação sugestiva de colônias de *Salmonella* spp. e, apenas 1 apresentou em meio SS colônias incolores, sugestivo de presença de *Shigella* spp, *Staphylococcus* coagulase positivo: 29 apresentaram crescimento positivo em meio Agar Sal Manitol. 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*. Os resultados a partir das análises realizadas em LH cru, indicam que de forma geral as amostras analisadas apresentaram parâmetros não compatíveis com a RDC nº 12 de 2001.

Palavras-Chave: Banco de Leite. Leite Humano. Microrganismos.

To investigate the samples of human milk discarded by the bank during analysis initially on the overall contamination by viable strict and facultative aerobic microorganisms; Check contamination of human milk received at the human milk bank Araguaína for the presence of total and fecal coliforms; Analyze the contamination of milk by *Salmonella* spp; Analyze the contamination of milk by coagulase positive *Staphylococcus*. A total of 66 LH samples from the HLB Araguaína, were subjected to evaluation of the following contamination indicators parameters: Count Microorganisms Standard Mesophiles Aerobic Strict and Optional Viable, NMP of Total Coliforms and thermotolerant, *Salmonella* spp search, and coagulase-positive *Staphylococcus* search. Of the 66 samples were obtained 23 positive samples for the presumptive test. Among these, 19 were positive in the confirmatory test for total coliforms, which gives about 29% of total samples. In the confirmatory test for thermotolerant, 12 samples were positive, totaling approximately 18% of the total samples, *Salmonella* ssp: 6 were among SS suggestive color and formation of colonies of *Salmonella* spp. and only 1 had amid SS colorless colonies , suggesting the presence of *Shigella* spp, *Staphylococcus* coagulase positive: 29 showed positive growth in Agar Mannitol salt . The colonies were submitted to the coagulase test, and 16 of these were positive samples (55.17%), indicating the presence of coagulase positive *Staphylococcus*, suggesting the presence of *Staphylococcus aureus*. The results from the analyzes raw LH, indicate that in general the samples showed no parameters compatible with the RDC 12, 2001.

Keywords: Milk Bank. Human Milk. Microorganisms.

¹ Acadêmicas de Medicina e Pesquisadora do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (ProBIC); Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos - ITPAC; Av. Filadélfia, 568; Setor Oeste; CEP: 77.816-540; Araguaína - TO. Email: gcarvalhonobre@gmail.com; rachelcoelho_11@hotmail.com; naara_martins@hotmail.com; yasminbione@hotmail.com.

² Docente da FAHESA/ITPAC. Av. Filadélfia, 568, Setor Oeste, Araguaína-TO. Professor Orientador do projeto. Email: guerra.ricardo@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

O leite humano (LH) é o alimento mais adequado ao recém-nascido devido seu valor nutricional e fisiológico. Possui propriedades imunológicas para proteção do trato-gastrointestinal e sistema respiratório da criança. O fato de muitas vezes a criança estar impossibilitada de receber o leite materno pelo aleitamento natural motivou a criação dos bancos de leite humano para suprir essa necessidade (GIUGLIANI, 2002).

O Banco de Leite Humano (BLH) é uma instituição especializada e responsável pela promoção do incentivo ao aleitamento materno e pela coleta, processamento, controle de qualidade e distribuição - sob prescrição médica ou de um nutricionista - do leite ordenhado de doadoras voluntárias cadastradas no programa. (NOVAK, et al, 2002).

Os bancos de leite humano (BLH) do país fazem parte da Rede Brasileira de Bancos de Leite (Rede BLH-BR). A rede foi uma iniciativa do Ministério da Saúde (MS) e da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), funciona desde 1943 e mantém suas atividades em todo o país (BRASIL, 2008). O Estado do Tocantins dispõe de três BLHs, o Centro de Referência Estadual é localizado em Palmas e os outros BLHs nos municípios de Araguaína e Gurupi. O BLH de Araguaína é vinculado ao Hospital Dom Orione e foi inaugurado em 22 de Outubro de 2010. Durante o ano de 2013 obteve um total de 649 doadoras, tendo coletado 304,7 litros de LH e distribuídos 231,2 litros. (FIOCRUZ, 2010).

Os BLHs prestam serviços a recém-nascidos, na maioria das vezes internados em UTIs, prematuros ou de baixo peso, com comprometimento imunológico, perturbação gástrica ou que são alérgicos a outros tipos de leite (SCARSO, 2008).

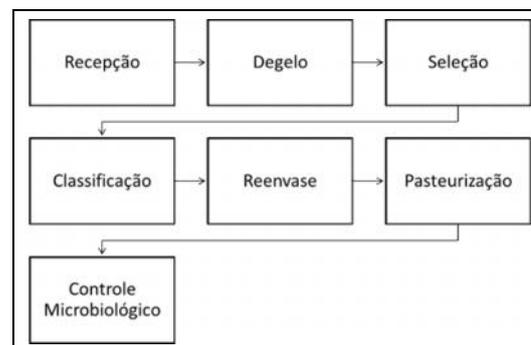
O LH normal é isento de microrganismos patogênicos e deve permanecer assim até o momento do consumo pelo recém-nascido. Entretanto, práticas deficientes de higiene das mães doadoras, do ambiente de coleta e armazenamento podem contaminar o leite. A presença de sujidades e o aumento da acidez do leite, também resultantes dessas más práticas, representam um dos desafios enfrentados pelos

BLHs, sendo responsável pelo descarte de muitas amostras durante a análise inicial (MITSUE, 2010).

BLH é um centro especializado obrigatoriamente vinculado a um hospital materno e/ou infantil, responsável pela promoção do incentivo ao aleitamento materno e execução das atividades da coleta, processamento e controle de qualidade de colostro, leite de transição e leite humano maduro, para posterior distribuição, sob prescrição do médico ou do nutricionista. É de responsabilidade dos bancos de leite o fornecimento de produtos seguros, inócuos e que cumpram a sua Função como alimento, promovendo e mantendo a saúde, principalmente ao considerar o grupo ao qual se destinam: crianças altamente vulneráveis. (REGO, 2002).

De acordo com a RDC nº171 de 2006 os bancos de leite devem: registrar, recepcionar e realizar uma triagem das mães doadoras. Ao receber o leite ordenhado, o mesmo deve seguir o fluxograma ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de processamento do Leite Humano Ordenhado.



Fonte: BRASIL, 2008.

Na recepção do leite são verificadas as condições nas quais o leite foi transportado e a temperatura do mesmo, em seguida uma desinfecção da parte externa do frasco de coleta é realizada.

O leite recebido é descongelado e em seguida passa pelo processo de seleção, que envolve a análise sensorial e físico-química do material, nessa etapa são averiguados: odor, presença de sujidades e acidez DORNIC. A seguir, é realizada a classificação do leite, que leva em consideração o conteúdo energético (crematócrito), acidez Dornic e o período de lactação da mãe doadora (BRASIL, 2006).

Após essas etapas o leite pode ser reenvasado e está pronto para a pasteurização, após a pasteurização é realizado o controle microbiológico.

Segue a descrição do método utilizado pelos Bancos de Leite, para o controle microbiológico, segundo determinações da ANVISA, (2008):

1. Uma alíquota de 1 mL de leite pasteurizado é transferido para tubos contendo 10 mL de caldo bile verde brilhante, a 50 g/L (5% p/v), com tubos de Durham em seu interior.
2. Após a inoculação e incubação a 36 ± 1 °C, a presença de gás no interior do tubo de Durham caracteriza resultado positivo. Os resultados positivos, por sua vez, devem ser confirmados mediante a transferência de uma alíquota (alça bacteriológica calibrada de 0,05 mL) para tubos contendo BGBL na concentração de 40 g/L (4% p/v). Após a incubação desses tubos sob as mesmas condições do teste inicial, a presença de gás indicando a existência de microrganismos do grupo coliforme confirma que o produto é impróprio para consumo. (BRASIL, 2008).

A descrição que o documento Banco de Leite Humano: Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos, traz para a técnica descrita acima, diz: “A partir do procedimento clássico para detecção de coliformes totais, foi desenvolvida uma metodologia alternativa” (BRASIL, 2008, p.139).

O leite materno processado em bancos de leite atende principalmente bebês prematuros ou doentes, que não conseguem mamar diretamente na mãe. O incentivo à amamentação é uma das estratégias para a redução da mortalidade neonatal. Isso é devido aos benefícios do aleitamento. As principais causas da mortalidade neonatais têm como motivos, problemas respiratórios e o baixo peso. (SALVIANO; CAVALCANTE, 2004).

Seguindo um artigo fundamental da Declaração de Genebra, segundo o qual toda criança tem direito ao aleitamento materno, e outro, da Declaração de Direitos Humanos que estabelece que mãe e filho têm direito a cuidados e assistência especial, os bancos de leite têm revelado a sua grande missão (UNICEF, 1998). São

verdadeiros centros de proteção, promoção e manutenção da prática do aleitamento materno, mesmo quando seja ela intermediada pelo beneficiamento do leite humano, como ocorre em bancos de leite humano (ASSIS; SANTOS; SILVA, 1983).

Assim, diante da importância dos BLs para toda uma comunidade que necessita dos serviços oferecidos, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do leite cru recebido pelo BLH do Hospital Maternidade Dom Orione, descartado durante a análise sensorial do processamento do leite, com a finalidade de verificar a possível contaminação microbiana do produto.

3. METODOLOGIA

A coleta domiciliar do leite humano e todos os procedimentos técnicos foram realizados normalmente pela equipe do banco de leite. Após a análise sensorial realizada pela equipe, o leite coletado que não atendeu aos requisitos de qualidade, ou seja, apresentava sujidades como: pelos, descamação epitelial, odor característico ou acidez Dornic fora do estabelecido pela RDC nº 171, foram selecionadas para análise. Outras amostras, aprovadas pela equipe do BLH, mas que pela pequena quantidade não foram pasteurizadas também foram submetidas à análise.

As amostras de LH foram transportadas em caixas térmicas e descongeladas à temperatura ambiente. Para a realização dos testes procedeu-se a diluição seriada das amostras (1:10, 1:100 e 1:1000) em solução salina peptonada a 0,1%, de acordo com a norma IN nº 62, 2003 (MAPA, 2003).

Um total de 66 amostras de LH, provenientes do BLH de Araguaína, foi submetido à avaliação dos seguintes parâmetros indicadores de contaminação: Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios Estritos e Facultativos Viáveis (Contagem Padrão de bactérias mesófilas ou Contagem Padrão em Placa), NMP de Coliformes Totais e Termotolerantes, Pesquisa de *Salmonella* spp. e pesquisa de *Staphylococcus* coagulase-positivo.

A Contagem Padrão em Placa foi realizada pelo método Pour Plate, utilizando o meio de cultura Plate Count Agar (PCA - HIMEDIA®). 1

mL das diluições de cada amostra foram inoculados em duplicata, seguido da incubação das placas ($36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas). A contagem das colônias seguiu as recomendações do anexo IV da IN nº 62.

O teste do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes totais e termotolerantes são baseados em duas provas: presuntiva e confirmativa. A prova presuntiva foi realizada mediante inoculação das amostras diluídas 10-1, 10-2 e 10-3 em uma série de 3 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (Kasvi®). O indício da presença de bactérias do grupo coliforme foi verificado pela formação de gás dentro dos tubos de Durhan. A prova confirmativa para a presença de coliformes totais e termotolerantes foi realizada mediante inoculação dos tubos positivos na prova presuntiva em Caldo Verde Brilhante Bile Lactose 2% (BGBL - (Kasvi®) e Caldo EC (Kasvi®), seguido de incubação a 37°C e 45°C em banho-maria com agitação, respectivamente.

As amostras foram consideradas positivas quando observada produção de gás nos tubos de Durhan após 48 horas de incubação.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., as amostras foram inoculadas em meio cultura SS (*Salmonella/ Shiguella*- Kasvi®) e incubadas a 37°C por 24-48 horas. A diferenciação das espécies foi realizada por meio da morfologia das colônias, conforme padrão estabelecido pelo fabricante.

A presença de *Staphylococcus* coagulase-positivo foi verificada mediante plaqueamento superficial das amostras em meio Agar Sal Manitol (Kasvi®), seguida de incubação a 37°C por 24-48 horas. As colônias presentes foram avaliadas por microscopia e prova de coagulase em tubo.

2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.1. Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios Estritos e Facultativos Viáveis

A determinação da contagem global de bactérias mesófilas (Figura 2) é uma importante avaliação, funciona como indicador da qualidade sanitária do leite, visto que, a maioria das bactérias patogênicas de origem alimentar é mesófila. Valores elevados desta contagem indicam, de forma indireta, que a qualidade do

material analisado não é satisfatória (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

De acordo com RDC nº 12 de 2001 o leite materno deve apresentar uma contagem global de até 1×10^2 UFC/mL. A RDC nº 171 de 2006 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano revogou o subitem “d” do item 25 (Alimentos Infantis) do anexo I da RDC nº 12 de 2001, termo que trata do valor máximo para contagem global de bactérias mesófilas, assim a RDC nº 171 de 2006 traz parâmetros para Leite Humano Ordenhado Pasteurizado (LHOP), e nesta norma o único parâmetro estabelecido, que libera leite para consumo humano, é a ausência de microrganismos do grupo coliforme, ou seja, a resolução aprovada em 2006 retirou a contagem global de bactérias mesófilas da lista de análises que devem ser realizadas pelos bancos de leite, permanecendo apenas as análises físico-químicas, e a análise do grupo coliforme para averiguar a qualidade microbiológica do leite.

Assim, convém ressaltar que o leite utilizado na pesquisa foi o leite humano cru, ou seja, não pasteurizado, para o qual não há parâmetros estabelecidos na RDC nº 171. No entanto, o valor de referência para a contagem global de bactérias mesófilas, adotados para essa pesquisa será de 1×10^2 UFC/mL, de acordo com a RDC nº 12 de 2001.

Das 66 amostras analisadas, 41 (62,12%) apresentaram valores maiores do que o estabelecido pela norma. Dentre essas, 8 amostras com valores $> 5,6 \times 10^6$ UFC/mL est, 5 amostras ficaram entre 1,1 e $3,5 \times 10^5$, 8 amostras ficaram entre 1 e $9,8 \times 10^4$. As demais amostras apresentaram valores compreendidos entre $1,2 \times 10^3$ UFC/mL e $7,56 \times 10^3$ UFC/mL.

Figura 2. Resultado da Contagem Global



A autora Castro (2006) relatou no seu estudo, que das 60 amostras analisadas, 96,66% obtiveram valores maiores que o estabelecido pela norma para contagem de mesófilos. Dentre esses valores positivos, 17,24% (10 amostras) apresentaram populações de 1 a 99 UFC/mL, enquanto 17,24% (10 amostras) apresentaram populações de 10^2 a $9,9 \times 10^2$ UFC/mL; em 10,34% (6 amostras) foram detectados de 10^3 a $9,9 \times 10^3$ UFC/mL; 25,86% (15 amostras) apresentaram entre 10^4 e $9,9 \times 10^4$ UFC/mL; 17,24% (10 amostras) entre 10^5 e $9,9 \times 10^5$ UFC/mL; 10,34% (6 amostras) ficaram entre 10^6 e $9,9 \times 10^6$ UFC/mL; 1,72% (1 amostra) entre 10^7 e $9,9 \times 10^7$ UFC/mL.

Segundo Assis Neto et al. (2001), os resultados encontrados no estudo em relação aos microrganismos aeróbios mesófilos nas amostras de leite humano cru apresentaram uma população média de $5,7 \times 10^5$ UFC/mL. Outro trabalho, analisando 30 amostras de leite cru pelo banco de leite humano Anita Cabral, apresentou 100% de positividade para bactérias aeróbias mesófilas, com contagens que variaram entre $1,1 \times 10^2$ e $3,7 \times 10^5$ UFC/mL. Nas amostras de leite humano pasteurizado, 40% (15 amostras) foram rejeitadas pelo controle da qualidade do banco de leite, pois eram positivas para microrganismos aeróbios mesófilos. (COSTA; SOUZA; SANTOS, 2004).

O resultado deste estudo revela que o leite humano analisado apresenta uma contaminação microbiana, sugerindo que existe risco de alteração da qualidade do leite em algumas amostras.

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 $62-63^\circ\text{C}$ durante 30 a 35 minutos.

De acordo com a RDC nº 171 de 2006, a pasteurização realizada nos bancos de leite é a pasteurização lenta, esse procedimento apresenta desvantagens como: diminuição em 95% da população microbiana inicial e longo intervalo de tempo para sua realização.

O leite bovino e seus derivados, destinados à venda no varejo e atacado devem ser submetidos à pasteurização rápida, esse processo apresenta valores de tempo e temperatura diferentes, e uma eficiência de 99,5% em relação à diminuição da contagem microbiana (ESALQ, 2011).

Convém ressaltar que é a qualidade do leite cru que determinará a qualidade do leite pasteurizado, assim, um produto com uma contagem muito elevada de bactérias, mesmo após a pasteurização, ainda apresentará valores elevados.

Alguns microrganismos podem permanecer viáveis e ser transmitidos pelo leite, mesmo após o procedimento de pasteurização lenta, citamos como exemplo o microrganismo intracelular obrigatório *Coxiella burnetti*, agente responsável pela doença conhecida como Febre Q, que apesar de incomum no país, provoca uma doença que se assemelha a uma síndrome gripal, para tanto é preciso considerar o público ao qual se destina o leite, crianças que estão internadas na UTI neonatal, ou seja, indivíduos que ainda não apresentam plena capacidade imunológica e por isso, susceptíveis a várias doenças.

Coxiella burnetti é comprovadamente resistente à pasteurização lenta, Pode suportar até 30 minutos sob temperatura de 60°C , em função dessa característica o processo de pasteurização do leite bovino sofreu alterações em relação ao tempo e temperatura, a legislação substituiu a pasteurização lenta pela rápida, para leite e seus derivados, assegurando assim uma maior segurança ao produto (MAURIN; RAOULT, 1999).

2.2. Número Mais Provável de Coliformes Totais e Termotolerantes (NMP/mL)

Das 66 amostras analisadas foram obtidas 23 amostras positivas na prova presuntiva (Meio Lauril Sulfato de Sódio). Dentre essas, 19 foram positivas na prova confirmativa para coliformes totais (Meio Verde-Brilhante, Figura 3), o que dá aproximadamente 29% das amostras totais.

Figura 3. Formação de Gás, confirmando presença de Coliformes Totais.



Já na prova confirmativa para termotolerantes (Meio EC) 12 amostras foram positivas, totalizando aproximadamente 18% das amostras totais.

• Coliformes Totais

No estudo de Castro (2006) observa-se que nas 60 amostras analisadas foram encontradas 75% das amostras positivas para microrganismos coliformes totais. Nesse estudo 57,77% (26 amostras) apresentaram populações entre 1 a 99 NMP/mL; em 24,4% (11 amostras) com populações entre 10^2 e $9,9 \times 10^2$ UFC/mL; em 2,22% (1 amostra) com populações de 10^3 a $9,9 \times 10^3$ NMP/mL; em 8,88% (4 amostras) com populações de 10^4 a $9,9 \times 10^4$ NMP/mL; em 4,44% (2 amostras) com populações de 10^5 a $9,9 \times 10^5$ NMP/mL; em 2,22% (1 amostra) com população de 10^6 a $9,9 \times 10^6$ NMP/mL.

Segundo o estudo de Bortolozzo et al. (2004), em 5 amostras de leite humano processado do Instituto de Ponta Grossa/PR, não foram detectados coliformes. Enquanto que no estudo de Pontes; Ivasaki e Oliveira (2003), na avaliação microbiológica de leite materno processado em 27 amostras, detectou-se contaminação com coliformes totais em 33,3% das amostras positivas.

Em outro estudo realizado com 343 amostras de leite humano ordenhado, obtidas a partir de frascos oriundos de coleta domiciliar, recebidos pelo banco de leite humano do Instituto Fernandez Figueira - IFF, os microrganismos do grupo coliformes totais foram detectados em 31,2% das amostras analisadas, com populações de coliformes variando de $3,0 \times 10$ a $1,1 \times 10^4$ NMP/mL (NOVAK; ALMEIDA, 2002)

• Coliformes Termotolerantes

No estudo de Castro (2006) quando avaliou-se o microrganismo *Escherichia coli*, o resultado foi positivo em 50% (30 amostras), embora apresentando populações pequenas na maioria delas. Dentre essas, 28 amostras com populações de 1 a 99 NMP/mL, 1 amostra com população de 10^4 a $9,9 \times 10^4$ NMP/mL e 1 amostra com populações de $9,9 \times 10^5$ NMP/mL.

Os autores Serafini et al. (2003) relataram que, de 194 amostras de LHO (leite humano ordenhado) cru não pasteurizado, foi encontrada contaminação em 70,4% das amostras com microrganismos indicadores e/ou patogênicos, sendo 1,66% (3 amostras) contaminadas por *E. coli*.

2.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

Entre as 66 amostras avaliadas, 6 (seis) apresentaram em meio SS coloração e formação sugestiva de colônias de *Salmonella* spp. e, apenas 1 apresentou em meio SS colônias incolores, sugestivo de presença de *Shigella* spp (Tabela 1) (Figura 4).

Tabela 1. Resultados obtidos para pesquisa de *Salmonella* spp.

AMOSTRAS QUE APRESENTARAM CRESCIMENTO EM MEIO SS	CARACTERÍSTICAS DAS COLÔNIAS	SUGESTIVOS DE:
2	Incolor com centro preto	<i>Salmonella</i> spp.
16	Incolor com centro preto/incolor	<i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp.
17	Incolor com centro preto	<i>Salmonella</i> spp.
18	Incolor com centro preto	<i>Salmonella</i> spp.
20	Incolor com centro preto	<i>Salmonella</i> spp.
38	Incolor com centro preto	<i>Salmonella</i> spp.

O trabalho realizado por Sousa et al. (2007), o qual utilizou a metodologia semelhante a desse estudo, analisou 15 amostras de leite humano cru do BL do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belém, PA. Para a pesquisa de *Salmonella* spp. não obteve nenhum resultado positivo.

Figura 4. Placas com meio SS



2.4. Pesquisa de *Staphylococcus coagulase positivo*

Entre as 66 amostras de LH analisadas, 29 apresentaram crescimento positivo em meio Agar Sal Manitol. As colônias foram submetidas ao teste de coagulase, onde 16 dessas amostras apresentaram-se positivas (55,17%), indicando a presença de *Staphylococcus coagulase positivo*, o teste positivo para coagulase sugere a presença de *Staphylococcus aureus*, porém novas etapas de testes devem ser realizadas para confirmar a presença deste microrganismo. (Figura 5)

No estudo de Castro (2006) observa-se que das 60 amostras de leite humano cru analisadas, 46,66% foram positivas para *Staphylococcus coagulase positiva*. Valor semelhante ao encontrado nesse estudo.

Esse resultado é facilmente explicável, visto que o microrganismo *Staphylococcus aureus* é encontrado na orofaringe dos seres humanos com prevalência de 35 a 40% e na boca e saliva, de 10 a 35% (SERAFINI et al., 2003). Em relação ao leite humano cru, os resultados do estudo de Serafini et al. (2003) que encontraram 7,35% (10 amostras) foram semelhantes ao de (CARROL et al., 1979) que observaram *S. aureus* em 13 amostras (6,2%) das 207 de leite humano pesquisados.

A presença de *Staphylococcus coagulase-positivo* nas amostras de LH representa um importante indício da contaminação por *S. aureus*, o mesmo pode ser encontrado na microbiota

normal da pele e das vias aéreas superiores, a presença do microrganismo no leite indica uma falha nos procedimentos durante seu manejo, onde o uso de luvas e máscaras deve ser respeitado (SANTOS, et al., 2007).

Durante o aleitamento materno diretamente ao seio da mãe, não há transferência destes microrganismos, que são contaminantes secundários, isto é, a sua presença é indicativa de contaminantes externos provenientes de manipuladores, utensílios e equipamentos (PONTES; IVASAKI; OLIVEIRA, 2003).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos, a partir das análises realizadas em LH cru, indicam que de forma geral as amostras analisadas apresentaram parâmetros não compatíveis com a RDC nº 12 de 2001, com destaque para a contagem padrão de bactérias mesófilas que apresentou valores elevados, mesmo considerando que foram utilizadas amostras de LH cru.

Para tanto, sugerimos que outras análises do leite cru sejam inseridas, como a contagem padrão de bactérias mesófilas e a inclusão de mecanismos que avaliem a eficiência da pasteurização.

Assim destacamos a importância dessa pesquisa em 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.

7. REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 171, de 4 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Funcionamento de Bancos de Leite Humano. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 5 set. 2006.

- BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. 160p. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2008. 160p
- ASSIS NETO, A.C.; PEREIRA, G.M.M.; PEREIRA, G.T.; SANTOS, M.C.M. Perfil microbiológico do leite materno do banco de maternidade Evangelina Rosa - Teresina, PI. **Boletim do Centro de Pesquisa Processamento Alimentar**; Curitiba, v.19, n. 1, p. 75-84, jan./jun. 2001.
- ASSIS, M.A.A.; SANTOS, E.K.A.; SILVA, D.A.G.V. Planejamento de banco de leite humano e central de informação sobre aleitamento materno. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 17, n. 5, p. 1-10, out. 1983.
- BORTOLOZO, E.A.F.Q.; PIETROSKI, G.; BAGGIO, R.; CÂNDIDO, L. M. B. Padrão microbiológico e sanitário do leite humano, processado em banco de leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 122, p. 85-88, jul. 2004.
- BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília: 2001.
- CARROLL L, DAVIES DP, OSMAN M, McNEISH A. Bacteriological criteria for feeding raw breast-milk to babies on neonatal units. *Lancet* 1979;2:732-3.
- CASTRO, M. R. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica de leite humano cru recebido em Banco de Leite Humano. **Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2006.
- COSTA, A.C.da; SOUZA, C.P.; SANTOS FILHO, L. Caracterização microbiológica do leite humano processado em banco de leite de João Pessoa, PB. **Revista Brasileira de Análise Clínica**, João Pessoa, v. 36, n. 4, p. 225-229, 2004.
- ESALQ. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. **Pasteurização do Leite**. 2011. Disponível em: www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Pasteurizacao.pdf. Acesso em 21 jan. 2014.
- FIOCRUZ. Rede Brasileira de Bancos de Leite. **Banco de Leite Humano do Hospital Dom Orione**. 2010. Disponível em: <http://www.redeblh.icict.fiocruz.br/producao/mapa_blog.php?cmb_municipio=blh:322:Centro:211#> Acesso em 17 jan.2014.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ateneu, 182p., 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.
- INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62, 26 de Agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília: 2003.
- MAURIN, M; RAOULT, D. Q Fever. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, vol.12, n.4 p. 518-553, 1999.
- 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
- NOVAK, F. R.; ALMEIDA, J. A. G.; SANTOS, M. J. S., WANKE, B. Qual seria a fonte de fungos miceliais encontrados em leite humano ordenhado? **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 18, n.3, p. 873-875, 2002.
- NOVAK, F.R.; ALMEIDA, J.A.G.de. Teste alternativo para detecção de coliformes em leite humano ordenhado. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 193-196, 2002.
- PONTES, M.R.; IVASAKI, Y.; OLIVEIRA, Y.S. Avaliação das condições sanitárias do leite humano pasteurizado distribuído pelo banco de leite de um hospital público do Distrito federal. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, p. 43-49, abr. 2003.
- REGO, J.D. **Aleitamento materno**. São Paulo: Atheneu, 2002. 518p.

SALVIANO, S.; CAVALCANTE, A.M. Leite materno é saúde. **Revista Nutrição em Pauta**, São Paulo, n. 67, p. 8;10-11, jul./ago. 2004.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H.C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SCARSO, I. S. Estudo dos fatores que condicionam acidez elevada em leite humano: Aspectos microbiológicos e Nutricionais. 84 f. **Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)**. Universidade de São Paulo, 2008.

SERAFINI, A.B.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; RODRIGUES, M.A.V.; KIPNIS, A.; CARVALHO, C.O.; CAMPOS, M.R.H.; MONTEIRO, E.C.; MARTINS, F.; JUBE, T.F.N. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. **Saúde Pública**, Goiânia, v.37, n. 6, p. 775-779, dez. 2003.

SOUSA, C. L.; NEVES, E. C. A.; LOURENÇO, L. F. H. ; LUCENA, M. R.; LINS, R. T. Diagnóstico das Condições Higiênicas e Microbiológicas do Banco de Leite Humano do Hospital Santa Casa de Misericórdia, na Cidade de Belém, Estado Do Pará. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n.2. p. 133-140, 2007.

UNICEF. Fundo das Nações Unidas para a Infância. **Declaração dos direitos da criança**, 1988. Disponível em : <http://www.unicef.org/brazil/decl_dir.htm> Acesso em : 02/06/2014.