

Avaliação microbiológica do preparo de fórmula láctea infantil em lactário hospitalar

Microbiological quality in preparing the infant milk formula in hospital milk dispensary

RIALA6/1321

Pamela ROSSI*, Dirce Yorika KABUKI, Arnaldo Yoshiteru KUAYE

*Endereço para correspondência: Laboratório de Higiene, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Rua Monteiro Lobato nº80, Barão Geraldo, Campinas, SP, Brasil. CEP: 13082-862. E-mail: pamelarossica@yahoo.com.br

Projeto FAPESP 06/56265-9

Recebido: 13.09.2010 – Aceito para publicação: 29.12.2010

RESUMO

As condições higiênico-sanitárias no preparo de fórmulas infantis em lactário hospitalar foram investigadas por meio de análises microbiológicas de amostras do ar ambiental, das superfícies de equipamento e utensílios e da fórmula láctea infantil (FLI) em pó e reconstituída. As coletas foram realizadas em dez pontos amostrais de seis lotes de preparação, um total de 60 amostras, nas quais foram realizadas as determinações de micro-organismos indicadores dos grupos dos coliformes totais e fecais, enterobactérias totais, micro-organismos aeróbios mesófilos e psicotróficos totais e dos micro-organismos patogênicos *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus* e *Salmonella*. Uma grande variação nas contagens dos micro-organismos indicadores foi observada, embora nenhum dos micro-organismos patogênicos analisados tenham sido detectados. Todas as amostras da FLI em pó apresentaram-se adequadas para o consumo, de acordo com a resolução vigente, porém as amostras das FLIs reconstituídas apresentaram contagens elevadas para a maioria micro-organismos indicadores. O liquidificador foi identificado como a principal fonte de contaminação das FLIs reconstituídas, apresentando contagens elevadas de micro-organismos indicadores. A não conformidade aos pré-requisitos higiênico-sanitários durante o preparo da FLI reconstituída para lactentes, resulta em um produto microbiologicamente inadequado para crianças em estado de saúde debilitado.

Palavras-chave. fórmula infantil, leite, lactário, higiene, riscos microbiológicos.

ABSTRACT

The hygienic conditions in preparing the infant milk formula used in a public hospital milk dispensary were investigated by microbiological analyses of air, equipment, utensils, powdered and reconstituted infant dairy formula (IDF). Samples were collected from 10 different sampling points of six preparation batches. A total of 60 samples were analyzed for identifying and quantifying the indicative microorganisms as fecal coliforms, total Enterobacteriaceae, aerobic mesophilic and psychrotrophic microorganisms and pathogenic microorganisms as coagulase-positive *Staphylococcus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella*. A high variation in the indicative microorganisms counting was observed, although no pathogenic agent was detected. All of the powdered IDF samples were appropriate for consumption according to the regulatory standard. However, the reconstituted IDF samples showed high counts of the majority of indicative microorganisms. Also, this study identified the blender as the main source for reconstituted IDF contamination, and from which the total Enterobacteriaceae and total aerobic mesophilic microorganisms were isolated. Non-compliance with the hygienic prerequisites during the preparation of the reconstituted IDF resulted in an inadequate product for children consumption.

Key words. infant formula, milk, lactary, hygiene, microbiological hazards.

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) afetam o bem estar e a saúde de muitas pessoas todos os dias, apresentando maior severidade em pessoas com estado de saúde debilitado, como crianças hospitalizadas.

A maior parte das DTA que ocorrem no Brasil ainda não são notificadas e a identificação do agente etiológico ocorre em poucos dos casos descritos. Quando essas doenças ocorrem em ambiente hospitalar a gravidade é alta, podendo resultar em sérias complicações, sequelas e óbitos¹.

A contaminação dos alimentos servidos nos hospitais pode ocorrer durante o preparo, transporte, armazenamento e administração. A matéria-prima também pode ser uma fonte de contaminação, sendo necessário o controle higiênico sanitário, não apenas nos locais de manipulação, mas também na aquisição das matérias-primas².

As fórmulas infantis à base de leite são produtos, líquidos ou em pó, destinados à alimentação de crianças ou recém-nascidos, em substituição ao leite materno. No hospital, essas fórmulas são geralmente preparadas no lactário, unidade destinada ao preparo, higienização e distribuição das mamadeiras com leite e seus substitutos para alimentação de recém-nascidos e dos pacientes da pediatria³.

Atualmente estão disponíveis no mercado diversos tipos de fórmulas infantis em pó à base de leite, que foram elaboradas, a partir de leite de vaca e de outros mamíferos, visando à substituição do leite humano. Como as fórmulas infantis são, geralmente, as únicas fontes de nutrientes para crianças menores de um ano, internadas em hospitais, é de extrema importância que esses alimentos sejam adequados às necessidades nutricionais da criança e que sejam seguros microbiologicamente, uma vez que as infecções que ocorrem ao longo do primeiro ano de vida são as principais causas da elevação do índice de morbi-mortalidade entre os lactentes⁴.

Segundo a *American Public Health Association* (APHA), a microbiota típica do leite em pó é composta por micrococcos termodúricos, estreptococos termófilos e micro-organismos aeróbios formadores de esporos, como o *Bacillus cereus*. A presença de bactéria do grupo dos coliformes e bactérias psicrotróficas neste produto pode indicar contaminação pós-processamento, transmitida pelo ar, por equipamentos, por utensílios ou pelo manipulador⁵.

Os principais problemas microbiológicos relacionados com leite em pó e produtos derivados, como as fórmulas infantis em pó, ocorrem devido à contaminação acidental durante, ou após a reconstituição do produto⁶. A qualidade higiênico-sanitária das condições

de processamento pode ser monitorada pela análise de micro-organismos indicadores como a contagem de coliformes no produto pronto⁵.

Infecções severas associadas ao consumo de fórmulas infantis por crianças e bebês internados em hospitais e a detecção de micro-organismos da família *Enterobacteriaceae* nestes produtos têm sido relatadas por alguns autores^{7,8}.

O regulamento nº 2073/2005, da Comunidade Europeia, que dispõe sobre critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios, destaca *Salmonella* e *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp) como os micro-organismos mais preocupantes em fórmulas para lactentes. A presença destes agentes patogênicos constitui um risco considerável, se as condições após a reconstituição das fórmulas permitirem a sua multiplicação. A análise da presença de membros da família *Enterobacteriaceae*, que inclui os agentes patogênicos citados, pode ser utilizada como um indicador do risco de ocorrência de micro-organismos patogênicos e como controle de rotina⁹.

A avaliação microbiológica do ambiente de preparo do alimento é importante para verificar a efetividade dos processos de higienização, determinar a presença de patógenos no ambiente e a qualidade microbiológica do ar ambiente que entra em contato com os alimentos⁵. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o preparo de FLI reconstituída, desde a sua reconstituição até a distribuição para o consumo, quanto aos aspectos microbiológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no lactário de um hospital público, onde são preparadas fórmulas infantis e sucos de frutas para bebês e crianças, que podem utilizar o serviço por apenas um dia ou permanecer no hospital por tempo indeterminado.

A FLI reconstituída foi preparada com até 24 horas de antecedência e armazenada sob refrigeração. A reconstituição da FLI em pó foi realizada com água esterilizada e a mistura foi homogeneizada em liquidificador e acondicionada em jarras plásticas para posterior posicionamento em mamadeiras esterilizadas. As mamadeiras prontas foram armazenadas sob refrigeração até o momento da distribuição, quando foram aquecidas em banho-maria. Tanto a temperatura de refrigeração quanto a de aquecimento não foram medidas, pois não eram controladas pelos manipuladores.

Para a coleta das amostras foram realizadas 06 visitas ao lactário e, a cada visita, foram coletadas amostras

do ar ambiente (02), da superfície de equipamentos e utensílios (03) e da FLI em pó e reconstituída (05), totalizando 60 amostras.

As amostras de ar foram coletadas em duplicata, dentro da sala de preparo, sobre a bancada, em dois pontos onde o ar entra em contato direto com o alimento: durante a etapa de mistura e homogeneização, e durante a etapa de envase das porções. Para essa coleta foi utilizada a técnica de sedimentação em ágar, na qual, segundo Evancho et al¹⁰, as placas ficam expostas durante 15 minutos.

O equipamento analisado foi o liquidificador, cuja amostra foi coletada do copo, através da técnica de lavagem com 100 mL de solução tampão fosfato estéril (pH 7,2). A solução foi agitada dentro do equipamento por 15 s visando a amostrar toda a área interna que entra em contato direto com o alimento. Para a coleta de amostras dos utensílios, foi utilizada a técnica de contato por esponja na jarra plástica e a técnica do *swab* na colher, ambas descritas em Evancho et al¹⁰.

As unidades amostrais da FLI em pó foram compostas de aproximadamente 50g, coletadas do mesmo lote utilizado no preparo da fórmula do dia, em sacos de polietileno estéreis, com o auxílio de uma espátula estéril. Para a FLI reconstituída foram coletadas 4 amostras das seguintes etapas de preparo: uma após o envase das porções, uma após o período de 24 horas de armazenamento sob refrigeração, uma após o aquecimento da FLI em banho-maria para a distribuição e uma após 2h da distribuição. As unidades amostrais foram compostas de aproximadamente 80 mL, envasadas em mamadeiras estéreis.

Para avaliar a qualidade microbiológica de todas as amostras foram realizadas contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos totais, de acordo com Morton¹¹; contagem de enterobactérias totais, conforme Kornacki e Johnson¹²; e contagem de *Bacillus cereus*, segundo a metodologia descrita por Bennett e Belay¹³. Para as amostras da FLI em pó e da FLI reconstituída, foram realizadas ainda, determinações de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C, pela técnica do Número Mais Provável (NMP), segundo Kornacki e Johnson¹²; de micro-organismos aeróbios psicotróficos totais, de acordo com Morton¹¹; de *Staphylococcus* coagulase positiva, conforme Silva et al¹⁴; e da presença de *Salmonella* spp segundo Andrews et al¹⁵. Para a quantificação de enterobactérias totais nas amostras de FLI foi utilizada a técnica do NMP.

Considerando o risco de presença de micro-organismos patogênicos como *E. sakazakii* em fórmulas infantis, colônias características de enterobactérias no ágar vermelho violeta bile glicose (colônias pequenas com centro violeta e halo de

precipitação de sais biliares), foram identificadas através de um sistema padronizado para a identificação de membros da família *Enterobacteriaceae*, o kit API 20E (bioMérieux).

RESULTADOS

Os resultados da análise microbiológica evidenciaram uma grande variação nas contagens dos micro-organismos indicadores, conforme apresentados nas Tabelas 1 e 2, porém *B. cereus*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus* coagulase positiva não foram detectados em nenhuma das amostras.

Todas as amostras de ar ambiente apresentaram resultados negativos para as determinações realizadas (*B. cereus*, enterobactérias totais e micro-organismos mesófilos totais).

Na avaliação microbiológica das superfícies, observou-se que a colher foi o único utensílio que se apresentou adequadamente higienizado, com contagens de micro-organismos mesófilos totais abaixo do limite recomendado pelo Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos, que é de no máximo 100 UFC por utensílio¹⁰, e com ausência de enterobactérias totais, como pode ser observado na Tabela 1.

A jarra plástica utilizada para o acondicionamento da FLI reconstituída, apresentou contagens de micro-organismos mesófilos totais acima do limite recomendado pelo Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos (100 UFC/utensílio) na maioria dos lotes analisados, com um valor máximo de $3,1 \times 10^3$ UFC/cm², e contagens variadas de enterobactérias, com valores de até $9,6 \times 10^1$ UFC/cm² (Tabela 1).

As amostras do liquidificador apresentaram contagens de micro-organismos mesófilos totais muito acima do limite recomendado pelo Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos (100 UFC/equipamento), com valores entre $4,7 \times 10^3$ e $6,2 \times 10^7$ UFC/equipamento (Tabela 1). Contagens elevadas de enterobactérias, com valores de até $1,6 \times 10^7$ UFC/equipamento, também foram encontradas.

Os resultados obtidos para a FLI em pó mostraram que todas as amostras estavam adequadas para o consumo, de acordo com os limites especificados pela Resolução RDC nº12, de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹⁶, porém todas as amostras das FLI reconstituída apresentaram contagens elevadas em todos os lotes analisados, destacando-se as amostras do lote 5, no qual o maior valor encontrado para micro-organismos mesófilos totais foi de $5,7 \times 10^7$ UFC/mL para a FLI, após 2h da distribuição (Tabela 2).

Tabela 1. Contagem de micro-organismos indicadores nas superfícies do equipamento e dos utensílios utilizados no preparo da Fórmula Láctea Infantil reconstituída

Análises	Lotes de preparação					
	1	2	3	4	5	6
Micro-organismos mesófilos totais						
Colher (UFC/utensílio)	< 10	< 10	4,0 x 10 ¹	< 10	< 10	< 10
Jarra plástica (UFC/cm ²)	3,1 x 10 ²	2,2 x 10 ²	3,1 x 10 ³	< 0,2	< 0,2	4,5 x 10 ¹
Liquidificador (UFC/equipamento)	4,7 x 10 ³	5,9 x 10 ⁶	5,8 x 10 ⁶	9,6 x 10 ⁶	1,1 x 10 ⁷	6,2 x 10 ⁷
Enterobactérias totais						
Colher (UFC/utensílio)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Jarra plástica (UFC/cm ²)	1,1	0,4	9,6 x 10 ¹	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Liquidificador (UFC/equipamento)	< 1	< 1	6,4 x 10 ⁴	6,0 x 10 ⁶	3,7 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁷

UFC = Unidade Formadora de Colônia

Tabela 2. Contagem de micro-organismos indicadores na Fórmula Láctea Infantil em pó e reconstituída

Análises	Lotes de preparação					
	1	2	3	4	5	6
Micro-organismos mesófilos totais						
FLI em pó (UFC/g)	NA	NA	< 10	< 10	< 10	< 10
FLI após envase (UFC/mL)	NA	NA	2,6 x 10 ⁴	2,7 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁵	4,3 x 10 ⁴
FLI após 24h de refrigeração (UFC/mL)	NA	NA	2,8 x 10 ⁴	3,5 x 10 ⁵	4,9 x 10 ⁷	1,6 x 10 ⁵
FLI após aquecimento (UFC/mL)	NA	NA	1,7 x 10 ²	2,7 x 10 ⁵	5,4 x 10 ⁷	1,1 x 10 ⁵
FLI após 2h da distribuição (UFC/mL)	NA	NA	2,1 x 10 ²	2,8 x 10 ⁵	5,7 x 10 ⁷	3,2 x 10 ⁴
Micro-organismos aeróbios psicrotróficos totais						
FLI em pó (UFC/g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
FLI após envase (UFC/mL)	NA	1,6 x 10 ²	2,9 x 10 ²	3,4 x 10 ²	6,4 x 10 ³	1,8 x 10 ²
FLI após 24h de refrigeração (UFC/mL)	1,4 x 10 ⁴	8,0 x 10 ²	1,2 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴	4,9 x 10 ⁶	2,1 x 10 ⁴
FLI após aquecimento (UFC/mL)	1,2 x 10 ³	< 10	< 10	1,7 x 10 ¹	2,5 x 10 ⁵	< 10
FLI após 2h da distribuição (UFC/mL)	NA	< 10	< 10	1,2 x 10 ¹	4,7 x 10 ⁵	< 10
Enterobactérias totais						
FLI em pó (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
FLI após envase (NMP/mL)	< 3	> 1100	> 1100	> 1100	> 11000	11000
FLI após 24h de refrigeração (NMP/mL)	> 1100	> 1100	150	> 1100	> 11000	11000
FLI após aquecimento (NMP/mL)	> 1100	> 1100	23	> 1100	> 11000	2400
FLI após 2h da distribuição (NMP/mL)	> 1100	> 1100	43	> 1100	> 11000	2400
Coliformes totais						
FLI em pó (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
FLI após envase (NMP/mL)	23	> 1100	< 3	> 1100	> 1100	4600
FLI após 24h de refrigeração (NMP/mL)	> 1100	> 1100	< 3	> 1100	> 1100	11000
FLI após aquecimento (NMP/mL)	9	1100	< 3	> 1100	> 1100	23
FLI após 2h da distribuição (NMP/mL)	9	460	< 3	> 1100	> 1100	93

FLI = Fórmula Láctea Infantil NA = Não analisado UFC = Unidade Formadora de Colônia NMP = Número Mais Provável

A quantificação de micro-organismos aeróbios mesófilos totais nas amostras de FLI não foi realizada inicialmente (lotes 1 e 2) por não estar preconizada pela RDC nº12/2001, porém, a partir dos resultados iniciais, consideramos que essa avaliação poderia auxiliar na caracterização microbiológica deste produto.

DISCUSSÃO

Apesar do método de sedimentação ser pouco preciso na avaliação da qualidade do ar de um ambiente, ele reproduz a real deposição dos micro-organismos presentes no ar daquele ambiente durante o tempo em que o alimento fica exposto. Assim, podemos observar que o ar do lactário em estudo apresentou boas condições microbiológicas, uma vez que não apresentou contagem para nenhum dos micro-organismos analisados.

As elevadas contagens de micro-organismos indicadores observadas nas amostras da FLI reconstituída mostram claramente a ocorrência de falhas na manipulação e/ou na higienização dos equipamentos e utensílios utilizados em tal processo, uma vez que a matéria-prima (FLI em pó) mostrou-se microbiologicamente adequada ao consumo.

Os resultados obtidos para as contagens de micro-organismos indicadores nas amostras da jarra plástica, indicam que este utensílio é uma fonte potencial de contaminação. A jarra plástica também foi indicada como um ponto crítico por Alicia et al, citados por Salles e Goulart¹⁷.

O liquidificador se destacou como uma fonte potencial de contaminação, principalmente nos lotes 4, 5 e 6, quando as amostras da FLI reconstituídas também apresentaram as maiores contagens de enterobactérias, como pode ser observado na Tabela 2.

Nossos resultados corroboram com o trabalho realizado em um hospital público de Uberlândia/MG¹⁸, onde foi encontrada uma contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos de $1,7 \times 10^8$ UFC/equipamento, no liquidificador utilizado no preparo dessas FLIs. Almeida et al¹⁹ também encontraram micro-organismos aeróbios mesófilos, com valor médio de $1,3 \times 10^2$ UFC/cm², no liquidificador de um lactário em Salvador/BA.

A Resolução RDC nº12/2001 não estabelece padrão microbiológico para contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais para a fórmula infantil estudada. Segundo o *Compliance Program Guidance Manual* da FDA (Food and Drug Administration)²⁰, a quantidade máxima aceitável para mesófilos totais em fórmula infantil é de

10.000 células por g ou mL de alimento. Analisando as contagens da Tabela 2 pode-se verificar que a maioria das amostras da FLI reconstituída apresentou contagens superiores a esse limite.

Em hospitais de Salvador/BA, Almeida et al¹⁹ também observaram um aumento na contagem de aeróbios mesófilos totais, em até dois ciclos logarítmicos, quando a fórmula em pó era reconstituída, e destacaram os utensílios como uma das principais causas desta contaminação.

Para os micro-organismos indicadores do grupo das enterobactérias, dos coliformes totais e dos psicotróficos é possível observar que houve um declínio na contagem após a etapa de aquecimento em banho-maria, e este foi mais acentuado para o grupo dos micro-organismos psicotróficos por serem mais sensíveis ao aumento de temperatura. No entanto, essa redução não foi observada para todos os lotes, o que pode ser explicado pela falta de padronização e controle do tempo e da temperatura de aquecimento da FLI em banho-maria, antes da distribuição. É necessário estabelecer valores de tempo e temperatura adequados para que o tratamento térmico seja eficiente.

Para os micro-organismos psicotróficos totais pode-se observar um aumento na contagem após as 24h de refrigeração. Esse aumento pode ser decorrente do aumento da temperatura do refrigerador, em função da frequente abertura das suas portas, fato que foi observado durante a coleta das amostras. Segundo ANVISA²¹, a temperatura segura indicada para o armazenamento de produtos prontos, sob refrigeração, é de 5°C.

A resolução RDC nº12/2001 estabelece como limite máximo aceitável para o alimento em estudo, o valor de 10 coliformes a 35°C/mL de amostra indicativa¹⁶, porém a maior parte das amostras analisadas apresentou valores superiores ao limite máximo aceitável, mostrando que a FLI reconstituída se encontrava em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias em pelo menos uma amostra por lote analisado.

No estudo realizado por Salles e Goulart¹⁷ foi detectado que mais de 50% das amostras de preparações lácteas, de lactários hospitalares, apresentaram contagens de coliforme totais acima dos padrões de referência utilizados pelos autores.

Não existe um padrão estabelecido para a contagem de enterobactérias em produtos como a FLI, mas, considerando a relação direta entre a quantidade de enterobactérias e a de coliformes totais, pode-se dizer que as quantidades encontradas estão bem acima

das quantidades permitidas para coliformes totais, segundo RDC nº12/2001. A presença de enterobactérias e de coliformes totais em uma amostra de alimento processado indica contaminação pós-sanitização ou pós-processamento, evidenciando práticas inadequadas de limpeza e sanitização¹⁴.

Apesar de todas as amostras da FLI reconstituída do lote 3 apresentarem contagem de enterobactérias, essas amostras apresentaram contagens de coliformes totais inferiores a 3 NMP/mL. Isso revela que a contagem de enterobactérias pode ser mais eficiente para a indicação de condições higiênico-sanitárias de alimentos como a FLI. Atualmente, alguns laboratórios preferem quantificar enterobactérias totais ao invés de coliformes, a fim de incluir possíveis patógenos não fermentadores de lactose²².

Um estudo realizado por Estuningsih et al²³ também avaliou a presença de enterobactérias em fórmula infantil e, das 74 amostras analisadas, 35 apresentaram resultado positivo para a presença de enterobactérias.

As culturas de enterobactérias isoladas, tanto de amostras do liquidificador quanto das fórmulas infantis reconstituídas foram identificadas utilizando-se o kit API 20E (bioMérieux), com uma taxa de identificação acima de 80%, como *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter cloacae*. A espécie *E. asburiae* foi encontrada nos três primeiros lotes e a espécie *E. cloacae* nos três últimos lotes. O isolamento de *E. cloacae*, tanto da FLI reconstituída quanto do liquidificador, como observado no lote 6, indica que este equipamento é a principal fonte de contaminação da FLI reconstituída. Bar-Oz et al²⁴ verificaram que o liquidificador utilizado na reconstituição de fórmula láctea foi fonte de *E. sakazakii* em infecções de recém-nascidos. Espécies do gênero *Enterobacter* como *E. cloacae* e *E. sakazakii* já foram isoladas de fórmulas infantis por outros autores^{4, 23, 25}.

As bactérias do gênero *Enterobacter* têm sido consideradas importantes patógenos oportunistas nos últimos anos e a espécie *E. cloacae* é uma das espécies mais relacionadas com infecção hospitalar²⁶ e é um dos principais agentes de infecção hospitalar em unidades neonatais²⁷. Kuboyama et al²⁸ reportaram uma elevada taxa de mortalidade, devido à infecção sistêmica causada por *E. cloacae*, em uma unidade de terapia intensiva neonatal. Assim, a presença de *E. cloacae* em alimentos destinados a lactentes como a FLI é preocupante. Nenhuma das amostras analisadas

neste estudo apresentou presença de *Bacillus cereus*, *Salmonella* ou *Staphylococcus* coagulase positiva e a contagem para o grupo dos coliformes a 45°C (fecais ou termotolerantes) foi menor do que 3 NMP/mL.

No trabalho realizado por Salles e Goulart¹⁷, 41,6% das amostras de FLI reconstituída apresentaram contaminação por coliformes fecais, e Rowan et al²⁹ isolaram *B. cereus* de 17% de 100 amostras de fórmula infantil reconstituída, com uma contagem máxima de $4,8 \times 10^2$ UFC/mL.

A não detecção dos micro-organismos patogênicos pesquisados (coliformes com crescimento a 45°C, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* coagulase positiva) nas amostras analisadas neste estudo não diminui o risco que as fórmulas lácteas infantis reconstituídas representam, uma vez que as elevadas contagens de micro-organismos indicadores observadas demonstram a possibilidade de contaminação das fórmulas lácteas infantis, com micro-organismos patogênicos durante sua reconstituição.

CONCLUSÃO

As elevadas contagens de micro-organismos indicadores nas FLIs reconstituídas prontas para o consumo, obtidas de FLI em pó microbiologicamente seguras, demonstraram que a contaminação ocorre durante a reconstituição do produto, devido, principalmente, às falhas na higienização de equipamentos. O aumento das contagens de micro-organismos indicadores pode ser favorecido pelo armazenamento da FLI reconstituída em temperaturas inadequadas. As não conformidades, aos requisitos higiênico-sanitários, constatadas pela higienização inadequada de equipamento e utensílios e pela falta de controle de temperaturas durante o preparo da FLI para lactentes, resultou em um produto microbiologicamente inseguro para crianças, principalmente para aquelas em estado de saúde debilitado.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida.
À FAPESP pelo apoio financeiro

REFERÊNCIAS

1. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Vigilância ativa das doenças transmitidas por alimentos – Normas e instruções. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica; 2002.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Pediatria: Prevenção e controle de infecção hospitalar*. Brasília: Editora Anvisa; 2006.
3. Mezomo IF. Serviço de nutrição e dietética. São Paulo: União Social Camiliana; 1987. Lactário; p.115-37.
4. Santos RFS. Ocorrência de *Enterobacter sakazakii* em fórmulas infantis para lactentes em hospitais e maternidades da região de Campinas/SP [dissertação de Mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos; 2006.
5. American Public Health Association (APHA). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods*. 3ª ed. Washington: APHA; 1992.
6. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). *Microorganisms in Food*. 6 v. Maryland: Aspen Publishers; 2000. *Microbial Ecology of food commodities*; p.541-44.
7. Van Acker J et al. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 293-7.
8. Iversen C and Forsythe S. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae from powdered infant formula milk and related products. *Food Microbiol*. 2004; 21: 771-7.
9. Comunidade Europeia (CE). Regulamento Nº 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005, Critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial [da] União Europeia*. [acesso em 22 dez.2005]. Disponível em [<http://eur-lex.europa.eu/JOYear.do?year=2005>]. Data de acesso: 25/03/2007.
10. Evancho GM, Sveum WH, Moberg LJ, Frank JF. Microbiological Monitoring of the Food Processing Environment. In: APHA (American Public Health Association). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4 ed. Washington: APHA; 2001. p.25-36.
11. Morton RD. Aerobic Plate Count. In: APHA (American Public Health Association). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4 ed. Washington: APHA; 2001. p. 63-8.
12. Kornacki JL, Johnson JL. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In: APHA (American Public Health Association). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington: APHA; 2001. p. 69-82.
13. Bennett RW, Belay N. *Bacillus cereus*. In: APHA (American Public Health Association). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington: APHA; 2001. p. 311-6.
14. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. *Manual de métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. São Paulo: Varela; 1997, p.53-8.
15. Andrews HW, Flowers RS, Silikers J, Bailey SJ. Salmonella. In: APHA (American Public Health Association). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington: APHA; 2001. p. 357-80.
16. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial [da] União*. Brasília, DF, 2 jan 2001. Seção 1.
17. Salles RK, Goulart R. Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias e microbiológicas de lactários hospitalares. *Rev Saúde Pública*. 1997; 31(2):131-9.
18. Muniz CK. Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle em dietas enterais manipuladas em Hospital Universitário Público do Brasil [dissertação de Mestrado]. Uberlândia: Biblioteca Digital da Universidade Federal de Uberlândia; 2005.
19. Almeida RCC, Matos CO, Almeida PF. Implementation of a HACCP system for on-site hospital preparation of infant formula. *Food Control*. 1999; 10: 181-97.
20. U.S. Department of Health and Human Service food and Drug Administration (FDA). *Compliance Program Guidance Manual*. EUA. 2006, 31. Food Composition, Standards, Labeling and Economics. 31 July 2006.
21. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº216 de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. *Diário Oficial [da] União*. Brasília, DF, 16 set 2004. Seção 1.
22. Franco BDGM, Landgraf M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu; 2008, p.28
23. Estuningsih S, Kress C, Hassan AA, Akineden O, Schneider E, Usleber E. Enterobacteriaceae in dehydrated powdered infant formula manufactured in Indonesia and Malaysia. *J Food Prot*. 2006; 69(12): 3013-17.
24. Bar-Oz B, Preminger A, Peleg O, Block C, Arad I. *Enterobacter sakazakii* infection in the newborn. *Acta Paediatr*. 2001; 90(3): 356-8.
25. Shaker R, Osaili T, Al-Omary W, Jaradat Z, Mahmoud A. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* spp from food and food production environments. *Food Control*. 2007; 18(10): 1241-5.
26. Sanders WEJ, Sanders CC. *Enterobacter* spp.: Pathogens Poised to Flourish at the Turn of the Century. *Clin Microbiology Rev*. 1997; 10(2): 220-41.
27. Talon D, Menget P, Thouverez M, Thiriez G, Gbaguidi HH, Fromentin C et al. Emergence of *Enterobacter cloacae* as a common pathogen in neonatal units: pulsed-field gel electrophoresis analysis. *J Hosp Infect*. 2004; 57(2): 119-25.
28. Kuboyama RH, Oliveira HB, Moretti-Branchini ML. Molecular epidemiology of systemic infection caused by *Enterobacter cloacae* in a high-risk neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003; 24(7): 490-94.
29. Rowan NJ, Anderson JG, Anderton A. Bacteriological quality of infant milk formulae examined under a variety of preparation and storage conditions. *J Food Prot*. 1997; 60(9). 1089-94.