

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Sandra Cristina Mitsue

**Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um
Banco de Leite Humano no Vale do Paraíba, SP e a
qualidade sanitária do leite ordenhado**

Taubaté – SP

2010

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Sandra Cristina Mitsue

**Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um
Banco de Leite Humano no Vale do Paraíba, SP e a
qualidade sanitária do leite ordenhado**

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre em Ciências Ambientais,
do Departamento de Ciências Agrárias, da
Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Ciências
Ambientais

Orientadora: Prof^a Dr^a Mariko Ueno

Taubaté – SP

2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo
SIBi – Sistema Integrado de Bibliotecas / UNITAU**

M684p Mitsue, Sandra Cristina
Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um Banco de Leite Humano no Vale do Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado / Sandra Cristina Mitsue. - 2010.
78 f. : il.
Dissertação (mestrado) - Universidade de Taubaté, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, 2010.
Orientação: Profa. Dra. Mariko Ueno, Instituto Básico de Biociências.

SANDRA CRISTINA MITSUE

**PERFIL SÓCIO-ECONÔMICO E AMBIENTAL DE DOADORAS DE UM BANCO
DE LEITE HUMANO NO VALE DO PARAÍBA, SP E A QUALIDADE SANITÁRIA
DO LEITE ORDENHADO**

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre em Ciências Ambientais,
do Departamento de Ciências Agrárias, da
Universidade de Taubaté.
Área de Concentração: Ciências
Ambientais

Data: 15/04/2010

Resultado: Aprovada

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Mariko Ueno

Prof. Dr. Cyro de Barros Resende Filho

Profa. Dra. Roseli de Sousa Neto

Universidade de Taubaté

Universidade de Taubaté

Centro Universitário SENAC

Dedico este trabalho às doadoras de leite humano.

Aos meus pais,

Heitor e Tereza

Pelo apoio e amor incondicional

AGRADECIMENTOS

À Deus pela força e luz constantes na minha vida.

À Prof^a Dr^a Mariko Ueno pela amizade e orientação ao longo deste trabalho.

À minha família pelo incentivo, compreensão e paciência.

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Microbiologia pelo carinho, incentivo e imensas contribuições em cada etapa da pesquisa.

À Universidade de Taubaté por ceder o laboratório e os materiais para as análises.

Ao Banco de Leite Humano de Taubaté por abrir suas portas com tanta presteza e interesse.

Às funcionárias do Banco de Leite Humano de Taubaté.

Às doadoras de leite humano, que tanto bem fazem ao doarem esse precioso ouro branco.

Às doadoras que participaram tão prontamente desta pesquisa.

Aos colegas de mestrado pelo companheirismo e em especial a Adriana Cristina Rosa por tudo que passamos juntas.

À todos que me ajudaram de uma forma ou de outra no desenvolvimento desta pesquisa.

Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo as presentes e futuras gerações.

Art. 225 da Constituição Federal de 1988

Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um Banco de Leite Humano no Vale do Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado

Autora: Sandra Cristina Mitsue
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariko Ueno

RESUMO

O leite humano é livre de contaminantes e repleto de nutrientes, devendo permanecer assim até a hora do consumo. No entanto, condições higiênico-sanitárias inadequadas durante a coleta e o armazenamento do leite doado aos Bancos de Leite Humano podem ocasionar a presença de sujidades e contaminação do mesmo com microrganismos advindos das mãos da doadora ou do ambiente que a circunda. O objetivo dessa pesquisa foi verificar a qualidade sanitária de 76 amostras de leite humano ordenhado e enviado ao Banco de Leite Humano em Taubaté, SP e traçar o perfil sócio-econômico e ambiental de 27 doadoras cadastradas no Banco de Leite, assim como suas práticas higiênico-sanitárias durante a coleta e armazenamento do leite ordenhado. As análises microbiológicas mostraram que 100% das amostras estavam contaminadas com coliformes totais e termotolerantes, sendo que 30 amostras (39,48%) apresentaram contagens para coliformes totais acima de 2400 NMP/mL e 4 amostras (5,27%) apresentaram contagens para coliformes termotolerantes acima de 2400 NMP/mL. As amostras com menor índice de contaminação microbiológica eram provenientes de doadoras com maior nível de escolaridade. A maioria das doadoras declarou ser de cor branca, católicas, nascidas no Estado de SP e trabalham fora de casa. Todas realizaram o pré-natal, sendo que a maioria utilizou a rede particular de saúde, teve parto cesariana e optando por ter poucos filhos. Todas possuem serviços de saneamento básico em suas residências. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que o emprego inadequado de normas higiênico-sanitárias durante a obtenção e manipulação do leite humano ordenhado cru são fatores que favorecem o crescimento microbiano no leite.

Palavras-chaves: Banco Leite Humano. Doadoras. Ambiente.

Profile socio-economic and environmental of donors of a Human Milk Bank of the Vale do Paraíba, SP and the quality sanitary of the human milk orden

Author: Sandra Cristina Mitsue
Adviser: Prof^a. Dr^a. Mariko Ueno

ABSTRACT

Human milk is free of contaminants and full of nutrients, and should remain so until consumption. However, sanitary conditions during collection and storage of milk donated to human milk banks can lead to soiling and contamination of microorganisms from the hands or the environment of the donor. The aim of this study was to assess the sanitary quality of 76 samples of human milk of Human Milk Bank in Taubaté, SP and trace the socio-economic and environmental of 27 donors registered in the Human Milk Bank, as well as hygienic practices and health during the collection and storage of milk. Microbiological analysis showed that 100% of the samples were contaminated with total coliforms and thermotolerant coliforms, and 30 samples (39.48%) showed total coliform counts for most of 2400 MPN/mL and 4 samples (5.27%) had scores for thermotolerant coliforms above 2400 MPN/mL. Samples with a lower rate of microbiological contamination were from donors with higher educational level. Most donors considered to be white, catholic, born in the State of SP and work outside the home. All received pre-natal, and most use the private network of health, had a cesarean section and choosing to have fewer children. All have basic sanitation services in their homes. The microbiological analysis results showed that the improper sanitary standards for the collection and handling of raw human milk predispose to microbial contamination of milk.

Keywords: Human Milk Bank. Donors. Environment.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1.	Objetivo Geral	15
2.2.	Objetivos Específicos	15
3.	REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1.	O meio ambiente, a saúde e alimentos	16
3.2.	Condições sócio-econômicas e ambientais, qualidade higiênico-sanitárias e segurança alimentar	18
3.3.	Doadoras de leite humano, ordenha, coleta, armazenamento e transporte do leite	20
3.4.	Banco de Leite: seleção, classificação e pasteurização	27
3.5.	O leite humano e a contaminação por enterobactérias	30
3.5.1.	Coliformes	34
3.6.	Incidência de contaminação microbiana em leite humano	35
3.7.	Padrões e legislação	37
4.	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1.	Aspectos éticos	38
4.2.	Local de coleta e amostragem	38
4.3.	Estudo do perfil sócio-econômico e ambiental das doadoras	39
4.4.	Seleção e rejeição de leite doado e as suas causas	39
4.5.	Identificação do conteúdo energético do leite doado	39
4.6.	Fluxograma dos procedimentos	40
4.7.	Análises microbiológicas	40
4.7.1.	Determinação do número mais provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes (NMP/mL)	40
4.7.2.	Delineamento estatístico	43
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1.	Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes	44
5.2.	Perfil das 27 doadoras que responderam ao questionário e tiveram amostras de LHOC analisadas	47
5.3.	Procedimentos de ordenha, coleta, armazenamento e a qualidade higiênico-sanitária do LHOC	48
5.4.	Condições ambientais das doadoras e a qualidade higiênico-sanitária do LHOC	52
5.5.	Condições sócio-econômicas das doadoras e a qualidade higiênico-sanitária do LHOC	55
5.6.	Índice de reprovação das amostras de LHOC	57
5.7.	Identificação do conteúdo energético do LHOC	59
6.	CONCLUSÃO	61
	Referências	63
	Apêndice A	72
	Apêndice B	73
	Apêndice C	74
	Apêndice D	75
	Apêndice E	76
	Apêndice F	77

1. INTRODUÇÃO

É incontestável, a função vital que o leite materno desempenha, na medida em que supre, com exclusividade, todas as necessidades alimentares de um bebê, é uma fonte de nutrição grátis, além de não gerar resíduos, ao contrário do que ocorre ao longo da cadeia produtiva do leite de vaca. Tal fato é significativo, tendo em vista que a população mundial enfrenta sérios problemas com o descarte do lixo produzido.

Para os recém-nascidos internados em UTIs neonatais, em sua maioria prematuros, o leite oferecido pelos Bancos de Leite Humano (BLH) assume importância ímpar, pois, além de alimentá-los, também vai ajudar a reforçar suas imunidades fisiológicas.

Normalmente, ao sair do seio materno, o leite humano é livre de contaminantes e em quantidade adequada de nutrientes, devendo permanecer assim até a hora do consumo. No entanto, práticas higiênico-sanitárias deficientes no momento da coleta podem contaminar o leite com microrganismos advindos das mãos da doadora ou do ambiente que a circunda.

O processo de pasteurização tem a missão de assegurar a inativação desses microrganismos, porém quanto maior a carga contaminante presente no leite cru, menor será a eficiência da pasteurização. Outra questão é a existência de bactérias que podem liberar toxinas resistentes a altas temperaturas e que podem ser transmitidas à criança, causando toxinfecções, além do agravante de que os microrganismos presentes no leite podem utilizar os nutrientes do mesmo, como fonte de alimento.

As bactérias do grupo coliforme existem, comumente, no ambiente e são responsáveis, consideravelmente, pela contaminação secundária do leite cru.

Ademais, práticas inadequadas de coleta e armazenamento do leite humano ordenhado cru (LHOC) podem ocasionar presença de sujidades e aumento dos níveis de acidez do mesmo, causando sua rejeição, pois há um limite aceitável de graus Dornic preconizado pela legislação.

As alterações ambientais realizadas pelo homem, com a derrubada de áreas florestadas e a expansão desenfreada da urbanização acarretam aglomerações e precariedade das condições de vida no cenário urbano, dando oportunidade a que vetores de doenças e microrganismos nocivos passem a conviver intimamente com o homem.

Nesse contexto, esse trabalho tornou-se relevante na medida em que se propôs a analisar amostras de LHOC de doadoras, que em seus domicílios, coletam, armazenam e encaminham o leite a um BLH em Taubaté, SP, quantificando bactérias do grupo coliformes, que porventura, estejam presentes no produto. Foi realizado um levantamento para identificar o conteúdo energético do LHOC que chega ao BLH, além do índice de rejeição durante a triagem e suas causas. E através de um questionário aplicado em 27 doadoras, foram estudadas as condições sócio-econômicas e ambientais em que vivem as mesmas e suas práticas higiênico-sanitárias durante a coleta e armazenamento.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Verificar a qualidade sanitária de amostras de LHOC, procedentes do BLH em Taubaté, SP, e traçar o perfil das condições sócio-econômicas e ambientais em que vivem as doadoras, assim como suas práticas higiênico-sanitárias durante a coleta e armazenamento do leite.

2.2. Objetivos Específicos

- Quantificar bactérias do grupo coliformes totais e coliformes termotolerantes em amostras de LHOC doados ao BLH no Município de Taubaté, SP.
- Quantificar o índice de rejeição de amostras de leite que chegam ao BLH e suas causas.
- Identificar o conteúdo energético de amostras de leite que chegam ao BLH.
- Analisar as condições sócio-econômicas e ambientais em que vivem as doadoras, assim como as práticas higiênico-sanitárias durante a coleta e armazenamento do leite, através de um questionário respondido pelas mesmas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. O meio ambiente, a saúde e os alimentos

Neste início do século XXI o mundo inteiro sente-se ameaçado, procurando encontrar argumentos para defender o equilíbrio do meio ambiente, a saúde pública e a qualidade dos alimentos (DALLARI; GERMANO, 2007).

Torna-se necessário, então, assumir que a biodiversidade e a saúde se inter-relacionam, porque é justamente o desequilíbrio ambiental, tanto no micro-ambiente (dentro de um alimento enlatado ou numa contaminação de alimentos) quanto no macro-ambiente global que leva ao surgimento de novas linhagens de microrganismos, por exemplo. Portanto, em um ambiente onde a biodiversidade é reduzida, reduz-se o risco à saúde, pois, o corpo humano é um ecossistema em equilíbrio (LEL, 2008).

O meio ambiente também é responsável pela integridade do alimento, sendo que o elo entre o ambiente e a saúde é percebido mais facilmente quando ocorre a exposição dos alimentos a contaminantes. Ao se tratar de alimentação e saúde deparamo-nos com duas situações muito importantes, o conteúdo nutricional do alimento e sua segurança em relação ao controle higiênico-sanitário (SILVA JR., 2007).

Antes mesmo de Louis Pasteur, já se preconizavam melhores condições de habitação, alimentos mais nutritivos, água potável, ruas limpas e melhorias das condições de trabalho. Antecipava-se, assim, uma verdade fundamental da medicina preventiva, a de que a saúde do indivíduo está intimamente ligada ao ambiente em que ele vive, tanto social, como físico. Então, é imprescindível haver um claro entendimento das relações fundamentais entre as condições ecológicas, culturais e de saúde humana para que se desenvolva um meio ambiente

saudável, com equidade social e desenvolvimento sustentável (SILVA JR., 2007; PHILLIPPI JR. 2005).

De acordo com a Organização Pan-americana de Saúde o conceito de saúde, entendido como resultado do estilo de vida, condições biológicas e acesso aos bens e serviços, diretamente relacionado aos determinantes de saúde de uma comunidade, transcende as concepções que tendem a reduzir os problemas sanitários ao âmbito das doenças e dos serviços de saúde hospitalocêntricos, destacando-se os aspectos da promoção e prevenção (OPS/MS, 2001). Paralelamente, o reconhecimento dos fatores que influenciam a saúde vêm evoluindo desde os antigos conhecimentos de saneamento básico, dirigido à prevenção e controle dos riscos biológicos, à situação atual onde se reconhece a necessidade de uma estratégia que incorpore, além daqueles riscos, fatores químicos, psicossociais, físicos e sindrômicos presentes na habitação e peridomicílio (BRASIL, 2004).

Segundo Silva Jr. (2007) a relação saúde-doença é diretamente proporcional ao equilíbrio da dieta e ao controle higiênico-sanitário dos alimentos. No entanto, Praxedes (2003) ressalta que em comunidades carentes, há vários fatores que dificultam as práticas de higiene, como, por exemplo, saneamento básico, controle de animais sinantrópicos e a salubridade das moradias. A precariedade desses fatores e a falta de informação sobre a relação alimento-doença aumentam o risco de contaminação dos alimentos.

O conceito de promoção de saúde proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS), desde a Conferência de Ottawa, em 1986, é visto como o princípio orientador das ações de saúde em todo o mundo (D'AGUILA *et al.*, 2000). Assim, parte-se do pressuposto de que um dos mais importantes fatores determinantes da saúde é a condição ambiental (MORRIS, 2004).

3.2. Condições sócio-econômicas e ambientais, qualidade higiênico-sanitária e segurança alimentar

As condições epidemiológicas, sanitárias e ambientais de uma comunidade fornecem indicadores da saúde ambiental local e possibilitam avaliar o impacto de políticas públicas ao longo do tempo, evidenciando se há vulnerabilidade da população aos fatores externos e quais são os riscos à saúde presentes. A partir de aspectos sócio-econômicos e ambientais, o modelo multi-etiológico de análise focaliza fatores endógenos e exógenos que causam agravos à saúde humana. Isto ocorre no contexto de políticas de saneamento, enquanto política pública que tende a destacar tanto condições sócio-econômicas e ambientais, como termômetros da saúde ambiental local, quanto sua própria eficácia ao longo do tempo. Primeiro, porque, dependendo da vulnerabilidade aos fatores externos, expõe a população a situações de risco à saúde; segundo, pela necessidade de ações permanentes que as mantenham em condições ou re-equilíbrio, e, finalmente, pelo fato de que o monitoramento dessas condições sócio-econômicas e ambientais inclui decisões e estratégias de acompanhamento das mudanças dentro e fora do ambiente (MUNIZ *et al.*, 2007).

Para Rios *et al.* (2007) as condições sócio-econômicas e ambientais se fazem relevantes em estudos de perfis de grupos e subgrupos sociais específicos, sobretudo em se tratando de populações que ocupam ambientes em condições sanitárias impróprias.

Portanto, o conhecimento das condições do meio pertinente à saúde, como saneamento e moradia, é de singular relevância no estabelecimento de medidas de promoção da qualidade de vida do indivíduo, famílias e comunidades (AZEREDO *et al.*, 2007). No caso das situações de risco, as quais envolvem a relação entre saúde e meio ambiente, compreende-se ser necessário considerar variáveis representativas de aspectos do ambiente e das condições de saúde da população envolvida (MUNIZ *et al.*, 2007).

Os fatores de risco decorrentes da tríade água, saneamento e higiene incluem vias de interação que promovem uma carga de doença adquirida por diversas vias (PRÜSS *et al.*, 2002). A melhoria da provisão dessa tríade, usadas de forma combinada, é efetiva na aquisição de melhor saúde para a população pobre dos países em desenvolvimento (CLARK; GUNDRY, 2004).

Segundo Góes (2001) a segurança alimentar pode ser definida como o direito de todos os cidadãos de terem acesso permanente aos alimentos necessários à vida, em quantidade e qualidade que a tornem digna e saudável.

Souza (2006) salienta que a alimentação, para os seres humanos, é uma condição *sine qua non* para sua sobrevivência. Segundo Sansana e Bortolozzo (2008) o alimento é fundamental para a promoção de saúde, não somente na quantidade ingerida diariamente, mas também nas condições sanitárias deste alimento. O controle higiênico-sanitário dos alimentos constitui fator importante para a prevenção das doenças de origem alimentar, além de ser um fator de relevância no desenvolvimento social (GERMANO; GERMANO, 2001).

O controle higiênico-sanitário dos alimentos:

- Controle higiênico: ações que visam melhorar a higiene como um todo, com procedimentos de higiene ambiental, pessoal e preparação dos alimentos. Significa o controle da contaminação.
 - Controle sanitário: ações que visam melhorar os processos e atribuir segurança na preparação dos alimentos. Controle da sobrevivência e multiplicação dos perigos biológicos.
- (Silva Jr., 2007, p.15)

Por outro lado, a expressão “alimentos seguros” pode ser interpretada de várias maneiras. As diferentes definições, entretanto, são dadas essencialmente a partir do que constitui um risco ou perigo significativo (FORSYTHE, 2002).

A contaminação de natureza biológica de origem microbiana é apontada, pelas autoridades da área de proteção dos alimentos, como o principal perigo para a saúde pública (GERMANO; GERMANO, 2001).

Segundo Costa (2004) os riscos à saúde instalam-se em qualquer momento do processo produção-consumo. Intencionalmente ou por falhas no processo, podem ser adicionados riscos aos objetos de consumo, o que é um agravante para questões de saúde. Da mesma forma, Souza (2006) diz que os perigos microbiológicos são as principais causas de contaminação dos alimentos, que os manipuladores com práticas higiênico-sanitárias inadequadas constituem a origem do problema e são os principais responsáveis pela contaminação microbiológica dos mesmos, podendo comprometer a segurança dos alimentos. Conclui ainda que as condições ambientais e de edificações, o controle de pragas e as condições de utensílios e equipamentos devem ser motivos de preocupações.

No caso dos BLH e postos de coleta de leite humano (PCLH) o LHO é susceptível a contaminações e o risco de causar danos à saúde neste caso é elevado considerando que os receptores são especialmente vulneráveis (BRASIL, 2006).

Em suas normas técnicas a Rede de Bancos de Leite Humano do Brasil (Rede BLH-BR) em 2007, define condições higiênico-sanitárias como: condições estabelecidas para orientar e padronizar procedimentos, tendo por finalidade assegurar a qualidade do processo, sob o ponto de vista da saúde pública.

3.3. Doadoras de leite humano, ordenha, coleta, armazenamento e transporte do leite

A decisão para doar leite humano requer um senso de compromisso para a comunidade, pois, as doadoras não recebem dinheiro, mas têm a satisfação de saber que estão ajudando quem precisa (UPDEGROVE, 2005). As doações voluntárias são indispensáveis para dar continuidade ao projeto dos BLH, os quais viabilizam a manutenção do aleitamento natural para grupos alvo, constituídos, principalmente, por recém-nascidos prematuros de baixo peso e com outras intercorrências (GALVÃO, 2006).

Doadores de leite humano são mulheres nutrizas saudáveis que escolhem compartilhar o excesso de leite produzido (UPDEGROVE, 2005). São também consideradas doadoras as nutrizas que estão temporariamente impedidas de amamentar seus filhos diretamente no peito, por razões ligadas à saúde dos mesmos, ou outras não ligadas à sua saúde, mas consideradas compatíveis com a amamentação. Em casos semelhantes, as nutrizas cujos filhos estão internados em unidades neonatais ou outras unidades hospitalares, e que ordenham o leite humano para estimulação da produção ou para consumo exclusivo de seus filhos são também classificadas como doadoras de leite humano (BRASIL, 2008).

As doações para posterior distribuição a crianças prematuras, com baixo peso e/ou doentes devem observar aspectos referentes a uma cuidadosa seleção, classificação e acompanhamento das doadoras (BRASIL, 2008). Portanto, o controle clínico das doadoras é importante, porque permite detectar algumas doenças, que podem ser transmitidas aos recém-nascidos e que impedem a amamentação e a doação do leite humano (COUTO *et al.*, 2003; HINRICHSEN, 2004).

A qualidade do LHO deve ser considerada como o resultado de esforço inteligentemente direcionado, desde a ordenha até o momento do consumo. Quando focada sob a perspectiva microbiológica, a qualidade depende fundamentalmente dos cuidados higiênico-sanitários dispensados à manipulação do leite, sobretudo no que diz respeito à ordenha. A estocagem é considerada um conjunto de atividades e requisitos para obter uma correta conservação do leite, a uma condição de temperatura e tempo, sob as quais o LHO é mantido antes do seu processamento (pasteurização) no BLH e também o armazenamento do leite humano ordenhado pasteurizado (LHOP) até o ato do consumo (BRASIL, 2006).

Para se ter um produto de boa qualidade, Scarso (2005) recomendou a implantação de Procedimentos Operacionais Padronizados para monitorar todas as atividades relacionadas ao leite humano, desde a higiene pessoal das doadoras até o armazenamento do produto final.

A ordenha do leite humano é a ação de manipular a mama lactante pressionando-a cuidadosamente para a retirada do leite, sendo feita pela própria nutriz (auto-ordenha), por um profissional de saúde, ou por alguém de sua escolha. Preferencialmente a ordenha deve ser feita com as mãos, por ser a forma mais efetiva, econômica, menos traumática e menos dolorosa, além de se reduzir os possíveis riscos de contaminação e pode ser feita pela mulher sempre que necessário. O uso de bombas tira leite não é indicado, pois pode gerar desconforto, risco e/ou agravamento de traumas mamilares. Além disso, as bombas são de difícil limpeza e esterilização, propiciando a proliferação bacteriana no LHO, o que freqüentemente levam à contaminação do mesmo (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A ordenha pode ser considerada como parte do controle de qualidade do LHO, uma vez que se não for bem conduzida, o produto poderá apresentar sujidades, odores estranhos, etc. e desta forma não poderá ser utilizado. Pode ser realizada no BLH, no PCLH ou no domicílio da doadora (SILVA, 2004).

Em domicílio, a ordenha deve ser realizada em ambientes que apresentem condições higiênico-sanitárias satisfatórias, isentos de fatores de risco que levem à ocorrência de não conformidades no LHOC e com rigor higiênico-sanitário capaz de garantir a manutenção das características imunobiológicas e nutricionais dos produtos que serão empregados na alimentação de bebês prematuros e de extremo baixo peso (SILVA, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2006; BRASIL, 2006).

Os procedimentos para que a ordenha seja realizada com rigor higiênico-sanitário, segundo BRASIL (2008) são:

- Usar exclusivamente utensílios previamente esterilizados para a coleta do leite humano;
- Lavar as mãos e antebraços com água corrente e sabão até os cotovelos; as unhas devem estar limpas e de preferência curtas;
- Evitar conversas durante a ordenha;
- Usar luvas se a ordenha não for feita pela própria nutriz;
- Desprezar os primeiros jatos de leite (0,5 a 1 mL);
- No caso de novas coletas para complementação do volume já coletado anteriormente, usar um copo de vidro fervido por 15 (quinze) minutos (contados a partir do início da fervura) e resfriado;
- Ao final da coleta, acrescentar o LHO ao frasco com leite congelado e levá-lo imediatamente ao congelador, evitando o degelo;
- Estar atenta para não preencher toda a capacidade do frasco, deixando sempre o volume 2 a 3 (dois a três) cm abaixo da borda.

Segundo Guimarães *et al.* (2006) o BLH é responsável pelo fornecimento de recipientes adequados e em quantidade suficiente para cada doadora. Esse número poderá ser calculado levando-se em consideração a quantidade de leite doado na visita anterior. Utiliza-se como embalagem para acondicionamento do LHO, recipiente de vidro, estéril, com boca larga, tampa plástica rosqueável e volume de 50 a 500 mL (FIOCRUZ, 2003).

Oliveira *et al.* (2006) orientam que havendo a necessidade de preparar os frascos no domicílio, deve-se:

- Providenciar um frasco de vidro limpo, com boca larga e tampa plástica;
- Retirar o rótulo e o papelão que fica sob a tampa e lavar cuidadosamente com água e sabão;

- Ferver o frasco e a tampa por 15 minutos;
- Deixar secar naturalmente com a boca voltada para um tecido limpo, evitando tocar na parte interna do frasco e da tampa.

A doadora deve guardar as embalagens em local (armário ou recipiente) limpo e fechado, livre de insetos e roedores, afastado de substâncias contaminantes e/ou que desprendam odores fortes (BRASIL, 2008). Na coleta domiciliar, as doadoras devem procurar um ambiente que garanta a qualidade microbiológica do LHOC, evitando-se locais onde existam animais domésticos ou em banheiros (BRASIL, 2001). Para a garantia dessas condições, após o cadastramento da doadora, o BLH deve agendar a coleta e garantir informações sobre as boas práticas de manipulação do LHOC e nas doações subsequentes deve realizar checagem da condição do ambiente de coleta (BRASIL, 2008).

Apesar de o leite humano possuir diversas substâncias antimicrobianas, ele não previne o desenvolvimento de microrganismos, inclusive aqueles potencialmente patogênicos (COSTA, 2001) e altas contagens de microrganismos no LHOC estão diretamente relacionadas com técnicas inadequadas de coleta, má higienização de mãos e mama antes da coleta e manutenção do leite ordenhado em temperaturas abusivas (SCARSO *et al.*, 2006).

A cadeia de frio é a condição na qual os produtos são mantidos sob refrigeração ou congelamento desde a coleta até o consumo, com o objetivo de impedir alterações químicas, físico-químicas, microbiológicas e imunológicas (BRASIL, 2006). O LHOC poderá ser estocado em refrigerador por um período máximo de 12 horas à temperatura de até 5^o C. Em congelador ou *freezer*, o mesmo, poderá ser estocado por um período máximo de 15 dias, à temperatura máxima de -3^o C (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

Por questões de natureza microbiana ou química, a manutenção da cadeia de frio a que deve ser submetido o LHO representa importante ação preventiva para a preservação da

qualidade do leite. Ao longo de toda a cadeia, o momento de transporte sempre agrega riscos de elevação de temperatura que, por conseguinte, favorece a ocorrência de não-conformidades. Para assegurar a manutenção da cadeia de frio no decorrer do transporte, o tempo entre o recebimento do produto no domicílio da doadora e a entrega na recepção do BLH não deverá ultrapassar 06 (seis) horas, mesmo tempo deverá ser respeitado para o transporte do LHOP até a unidade receptora final (SILVA, 2004).

Ademais, os produtos devem ser transportados do local de coleta ao BLH em recipientes isotérmicos exclusivos, constituídos por material liso, resistente, impermeável, de fácil limpeza e desinfecção, contendo gelo reciclável na proporção de 03 (três) litros deste, para cada litro de LHO (BRASIL, 2001).

Estudos evidenciam que cuidados básicos de higiene, isto é, a ordenha conduzida com rigor higiênico-sanitário possibilita a obtenção de LHO com microbiota cuja contagem total oscila em torno de $1,0 \times 10^2$ UFC/mL e isenta de patogênicos (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

Novak e Almeida (2002) analisaram 343 amostras de LHOC, oriundas do BLH do Instituto Fernandes Figueira e observaram que 106 amostras (31%) apresentaram microrganismos do grupo coliforme totais, com população variando de $3,0 \times 10^0$ a $1,1 \times 10^4$ NMP/mL.

Serafini *et al.* (2003) realizaram análises microbiológicas em 338 amostras de LHO, sendo 194 de leite cru e 144 de leite pasteurizado, coletadas no BLH de um hospital materno infantil de Goiânia, GO e verificaram alto grau de contaminação no leite cru com presença de membros da família Enterobacteriaceae em 49 amostras (25,3%). Das 144 amostras de leite pasteurizado, foram detectados membros desta família em nove (6,3%) amostras.

Utensílios sanitizados de forma indevida como bombas tira leite de diferentes espécies e frascarias não esterilizadas, podem contribuir com até $3,5 \times 10^7$ UFC/mL na contagem total.

Além do aspecto quantitativo, a inobservância desse cuidado pode acarretar o aparecimento de microbiota secundária, que inclui microrganismos representantes dos grupos: coliformes, estafilococos, psicrotróficos, termodúricos, termodúrico-psicrotróficos, bolores e leveduras, lipolíticos e proteolíticos. Todos esses microrganismos desqualificam o leite humano para o consumo (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

Existem poucos trabalhos científicos sobre as condições sócio-econômicas e ambientais em que vivem as doadoras voluntárias de leite humano, que possam corroborar com a qualidade nas práticas higiênico-sanitárias dos domicílios em relação à ordenha, coleta e armazenamento do leite ordenhado.

Galvão *et al.* (2006) estudaram algumas variáveis do perfil sócio-demográfico de doadoras de leite humano no BLH da Maternidade Pública de Fortaleza-CE e verificaram que a maioria apresentava idade entre 16 e 20 anos, eram casadas, possuíam instrução do ensino fundamental até o universitário. A maioria desconhecia os benefícios proporcionados pelo aleitamento materno para a mãe e filho, bem como a importância do banco de leite.

Mesquita (2001) aplicando um questionário a doadoras de leite do BLH do Instituto Fernandez Figueira-RJ, sobre seus hábitos de vida, verificou que a média de idade das doadoras participantes do estudo é de 29 anos com valor mínimo de 17 e máximo de 40 anos. A renda familiar média estava em torno de R\$ 2.800,00 e a doadora dividia sua residência em média com 05 pessoas. Outras características observadas foram que 100% das doadoras participantes do estudo sabiam ler e 38% possuíam o 3º grau completo, 22% concluíram o 2º grau e 2% possuíam o 1º grau completo. Em relação à habitação, 88% das participantes possuíam saneamento básico em suas residências, 18% eram residentes no Município do Rio de Janeiro por mais de 10 anos e 60% sempre moraram no Rio de Janeiro.

3.4. Banco de Leite: seleção, classificação e pasteurização

Os BLH configuram-se como um dos mais importantes elementos estratégicos da política pública em favor da amamentação (BRASIL, 2008). Com o papel de ser um centro de lactação especializado em promover, apoiar e proteger a amamentação, auxiliando particularmente as mães de prematuros o BLH executa também atividades de coleta, processamento e distribuição, constituindo fator principal no processamento seguro e com qualidade do leite materno para a alimentação dos recém-nascidos (RODRIGUES *et al.*, 2004). Socialmente, os BLH evitam o desperdício de milhões de litros de leite humano e agem diretamente na redução da mortalidade infantil pelo incentivo ao aleitamento materno (MATTA APRILE, 2001).

No Brasil, o primeiro BLH foi implantado em 1943 no Instituto Nacional de Puericultura, atual Instituto Fernandes Figueira (IFF), da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ (GALHARDO, 2002).

A Rede BLH-BR é um projeto do Ministério da Saúde, com a missão de promover a saúde da mulher e da criança mediante integração e construção de parcerias com órgãos federais, estados, municípios, iniciativa privada e sociedade; e com o objetivo de contribuir para a redução da mortalidade neonatal e melhorar os indicadores de aleitamento materno no Brasil (FIOCRUZ, 2007).

A rede é considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) a maior e com tecnologia mais complexa do mundo. O Brasil coordena a Rede Íbero-americana de Bancos de Leite Humano e repassa conhecimento sobre controle de qualidade e processamento de leite materno para 22 países da América Latina, Caribe, África e para Portugal e Espanha, na Europa. O banco de leite implantado em Madrid, por exemplo, foi desenvolvido totalmente com ferramentas brasileiras (BRASIL, 2009).

Dados do Ministério da Saúde mostrou que o número de doadoras aumentou 83% em cinco anos, passando de 60.441 doadoras em 2003 para 110.648 doadoras em 2008. Nesse período o volume de leite coletado subiu 49,5%, ou seja, de 99.000 litros em 2003 para 148.052 litros, em 2008. Até 2009, a Rede BLH-BR contava com 196 bancos de leite materno e 73 postos de coleta em funcionamento. E desde que o país passou a liderar a Rede Ibero-Americana de Bancos de Leite Humano, foram coletados, fora do território brasileiro, 82.048 litros de leite materno, beneficiando 85.961 crianças (BRASIL, 2009).

A Rede BLH-BR opera por meio da articulação do Centro de Referência Nacional (CRNBLH), localizado no Rio de Janeiro, com cada Centro de Referência Estadual (CREBLH) e suas respectivas comissões estaduais de BLH (MAIA *et al.*, 2006).

As normas para implantação e funcionamento de BLH, elaborados pelo Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN), dispõem sobre a pasteurização do leite materno e asseguram a obrigatoriedade deste procedimento, uma vez que o leite materno não é estéril. A coleta deve ser realizada com cuidados de assepsia para que não haja contaminação do leite com microrganismos presentes nas porções mais externas da mama ou do ambiente (ASSIS NETO *et al.*, 2001).

Os hospitais que possuem BLH no Brasil, em sua maioria, são de caráter público e assistem indistintamente pessoas de diferentes classes sociais. Os profissionais de saúde geralmente concordam que o LHO corretamente coletado, processado, armazenado e distribuído é o alimento mais apropriado para alimentar crianças prematuras. Porém, existem controvérsias sobre a segurança do LHO pelos riscos de um manuseio inadequado e a possibilidade de contaminação por patógenos transmitidos pela doadora (NOVAK, 1999).

Todo o LHOC recebido pelo BLH deve ser submetido aos procedimentos de seleção e classificação. Uma vez concluídas essas etapas, o BLH poderá optar em estocar o produto,

ainda cru, para futuro processamento ou iniciar imediatamente o processamento e controle de qualidade (BRASIL, 2006). A seleção compreende: condições da embalagem; presença de sujidades; cor; *off-flavor* e acidez Dornic. A classificação compreende a verificação de: período de lactação; grau de acidez Dornic e conteúdo energético - crematócrito (FIOCRUZ, 2003; SILVA, 2004; BRASIL, 2006).

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2006) o tipo de embalagem utilizado deve estar em conformidade com os padrões estabelecidos. A embalagem deve estar íntegra, rotulada e apresentar perfeita vedação. Os padrões de referência para a sujidade do LHOc determinam como aceitável e próprio para consumo o leite que não apresenta corpo estranho no momento de sua avaliação. A cor do LHO pode variar conforme os seus constituintes. São considerados produtos aceitáveis aqueles que apresentarem coloração que varie do esbranquiçado ao amarelo mais intenso, podendo passar pelo esverdeado e azulado.

A acidez Dornic do LHO pode ser classificada como original e desenvolvida. A original resulta da presença de seus constituintes e a desenvolvida decorre da produção do ácido láctico, a partir do crescimento bacteriano, sendo considerado normal para a acidez do leite humano qualquer valor situado na faixa de 1,0 a 8,0 °D. *Off-flavor* é a grandeza que mescla a percepção concomitante de odor e sabor, decorrente da incorporação de substâncias químicas voláteis provenientes do meio externo (BRASIL, 2006).

A pasteurização é o tratamento térmico aplicado ao leite, com o objetivo de inativar a bactéria *Coxiella burnetti*, microrganismo patogênico mais termorresistente que pode se desenvolver no mesmo. O binômio tempo/temperatura usado garante tanto a morte térmica de microrganismo patogênico quanto de parte da flora normal (BORGIO *et al.*, 2005). Portanto, o rigoroso controle de qualidade dos BLH e a pasteurização do leite a 62,5° C por 30 minutos

garantem a distribuição de um produto seguro e isento de microrganismos patogênicos (BRASIL, 2008).

Paschoa (1997) chamou a atenção sobre a necessidade da pasteurização, já que não se pode garantir que a coleta tenha ocorrido em condições higiênico-sanitárias adequadas; e conclui que apesar do método inativar alguns fatores nutricionais e protetores contidos no colostro do leite é mais seguro distribuir produto com níveis nutricionais e protetores menores do que produto com microrganismos que podem oferecer sérios riscos ao consumidor.

3.5. O leite humano e a contaminação por enterobactérias

Durante milhões de anos de existência da espécie humana, com exceção dos últimos cem ou cento e cinquenta anos, a alimentação ao seio representou a forma natural e praticamente exclusiva de se alimentar o ser humano em seus primeiros meses de vida. A lactação é a fase final do ciclo reprodutivo nos mamíferos e em quase todas as espécies é essencial para a sobrevivência durante o início da vida extra-uterina (CURY, 2003).

O leite humano contém, em proporções adequadas, os nutrientes necessários para o início da vida, além de apresentar melhores condições de digestibilidade para o trato intestinal, ainda imaturo dos bebês. Também propicia nutrição de alta qualidade para a criança, contribuindo para seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, tem sido responsável pela redução da morbi-mortalidade infantil (ESCUDER *et al.*; 2003).

Segundo Almeida (2004) o leite humano classifica-se em colostro (menos de 07 dias após o parto), leite humano de transição (07 a 14 dias após o parto) e leite humano maduro (mais de 14 dias após o parto).

Lamounier *et al.* (2000) salientaram em uma visão sistêmica, que o leite humano reúne mais de 150 substâncias diferentes, sendo uma mistura homogênea que ao microscópio

apresenta-se em três frações: emulsão, suspensão e solução. A fração emulsão corresponde à fase lipídica do leite humano, na qual se concentram os óleos, as gorduras, os ácidos graxos livres, as vitaminas e demais constituintes lipossolúveis. A fração suspensão refere-se à fase suspensa do leite humano, na qual as proteínas e quase a totalidade do cálcio e do fósforo encontram-se presentes na forma micelar, constituindo uma suspensão coloidal do tipo gel. A fração solução congrega todos os constituintes hidrossolúveis, como vitaminas, minerais, carboidratos, proteínas de soro, enzimas e hormônios, podendo ser considerado o soro do leite e sendo a água, o seu constituinte principal.

A qualidade do leite humano pode ser avaliada quanto ao aspecto nutricional, imunológico, microbiológico e físico-químico (NOVAK, CORDEIRO, 2007). É considerado um dos alimentos mais completos, assumindo papel importante na alimentação humana (SILVA, 2005). Porém, a disponibilidade de nutrientes, sua alta atividade de água e seu pH próximo da neutralidade torna o leite meio extremamente favorável ao crescimento microbiano. As condições de armazenamento e temperatura antes da pasteurização determinam, de maneira seletiva e pronunciada, a intensidade de desenvolvimento das diversas espécies microbianas contaminantes. As temperaturas baixas inibem ou reduzem a multiplicação da maioria das bactérias e diminuem a atividade de enzimas degradativas (ARCURI *et al.*, 2006).

O controle de qualidade tem o objetivo de assegurar a integridade de um produto, desde a coleta até o consumo, com baixo custo e com um mínimo de risco para a saúde do consumidor (SANTOS, 2005). Dos vários parâmetros usados para se avaliar a qualidade do leite, os mais importantes são aqueles relacionados com suas características microbiológicas (PEREIRA *et al.*, 2006)

Segundo Assis Neto *et al.* (2001) os microrganismos presentes no leite humano podem ser classificados segundo a sua origem, como: contaminantes primários e secundários. A microbiota de contaminação primária envolve microrganismos que passam diretamente da corrente sanguínea para o leite, como o HIV, enquanto que os contaminantes secundários são originários da microbiota normal da pele.

O LHO originado de doadoras saudáveis, submetidos ao controle rigoroso de higiene, é livre de microrganismos patogênicos. Quando ocorrem, estão relacionados a fontes de contaminação externas (BRASIL, 2006). No Brasil, o leite cru apresenta geralmente altas contagens de microrganismos, que estão diretamente relacionados com técnicas inadequadas de coleta, má higienização de mãos e mama antes da coleta e manutenção do LHO em temperaturas abusivas (SILVA, 2005; COSTA, 2001; SCARSO *et al.*, 2006). A coleta, inclusive, assume grande importância na qualidade higiênico-sanitária do leite, pois não se pode exercer controle absoluto desta, principalmente na coleta externa (ASSIS NETO *et al.*, 2001).

Por outro lado, contaminantes presentes em níveis elevados no LHO acarretam a redução do valor biológico pela utilização de nutrientes do leite pela microbiota contaminante e a diminuição dos fatores de defesa (ALMEIDA *et al.*, 1989). Estas situações determinam, na maioria das vezes, a classificação do produto como impróprio para o consumo, tendo em vista a vulnerabilidade da clientela receptora. Além disso, o processo de pasteurização será tanto menos eficiente quanto maior for a carga microbiana do produto. Observa-se que há uma grande lacuna nos critérios para seleção do leite para a pasteurização (SERAFINI *et al.*, 2003).

As enterobactérias pertencem a Família Enterobacteriaceae, sendo que muitas espécies predominam no solo, vegetação e na água; também podem fazer parte da microbiota normal

do trato intestinal do homem e animais. São bastonetes Gram-negativos, móveis por flagelos peritríqueos ou imóveis, anaeróbios facultativos, não formam esporos e medem de 0,5 a 2,0 µm de largura por 1,0 a 4,0 de comprimento. São fermentadores de glicose e outros carboidratos, não produzem oxidase e reduzem nitratos a nitritos. Os lipopolissacarídeos (LPS) presentes na sua superfície celular são endotoxinas (JAY, 2005).

O termo microrganismo indicador sugerido por Ingram, em 1977, pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de microrganismos, cuja presença ou ausência proporciona uma evidência indireta referente a uma característica particular do histórico da amostra. Normalmente, associa-se a organismos de origem intestinal, como por exemplo, a presença de certas bactérias Gram-negativas, que são utilizadas mais para avaliar a segurança e a higiene alimentar do que a qualidade (FORSYTHE, 2002).

O controle de qualidade microbiológico do LHO praticado pela Rede BLH-BR segue a lógica preconizada para alimentos, que institui a utilização de microrganismos indicadores de qualidade sanitária. Entre as enterobactérias, o grupo coliforme tem ocupado lugar de destaque, por ser de cultivo simples, economicamente viável e seguro, minimizando a possibilidade de resultados falso-negativos (NOVAK, ALMEIDA, 2002).

Estes microrganismos indicam o nível de contaminação ambiental que o alimento agregou. São sensíveis à temperatura de pasteurização e sua presença em produtos tratados termicamente indica contaminação após processo (TAMANINI *et al.*, 2007), fato que indica sempre a inobservância dos procedimentos higiênico-sanitários recomendados pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (RNBLH), o que se traduz em um fator de risco para consumidor e desqualificando-o para o consumo (RNBLH, 2000).

Em virtude disso, após a pasteurização do LHO, os BLH realizam análises microbiológicas para verificar a presença ou ausência de coliformes a 35°C, como forma de controle de qualidade do produto.

3.5.1. Coliformes

Os coliformes constituem um grupo de enterobactérias presentes nas fezes e no ambiente, como solo e as superfícies vegetais, animais e utensílios e sua presença em alimentos é um bio-indicador de qualidade higiênico-sanitária (RODRIGUES, 2003).

De forma geral, os coliformes são representados por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (JAY, 2005), sendo *Klebsiella pneumoniae* o microrganismo potencialmente patogênico mais frequentemente encontrado (ROZOLEN *et al.*, 2006).

A contagem de coliformes é um importante índice de qualidade de leite (COSTELLO *et al.*, 2001). Portanto, sua quantificação corresponde ao total de microrganismos Gram-negativos encontrados em uma amostra (GIACOMELLO *et al.*, 2008).

A. Coliformes Totais (35°C)

Os coliformes totais são enterobactérias que fermentam lactose com produção de gás a 35°C em 24-48 horas, e embora a Contagem total de coliformes (CT), indique risco potencial para se encontrar agentes biológicos com ação patogênica, sua presença não é uma indicação útil de contaminação fecal, pois este grupo inclui diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas como *Serratia* e *Aeromonas* (CONTE *et al.*, 2004).

B. Coliformes Termotolerantes (45°C)

Esse subgrupo inclui aqueles coliformes que desenvolvem-se à temperatura elevada - $44,5 \pm 0,2^\circ \text{C}$ - sejam de origem fecal ou ambiental. Coliformes termotolerantes devem incluir a *Escherichia coli* e espécies dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter*. Desses, apenas a *E. coli* tem presença garantida nas fezes humanas e animais homeotérmicos com percentuais em torno de 96 a 99%. Os demais gêneros participam com percentuais que variam entre 03 e 08% em fezes animais a 03 a 04% em fezes humanas. Os coliformes termotolerantes que desenvolvem-se em temperaturas elevadas ($44,5 \pm 0,2^\circ \text{C}$) e que não são *E. coli*, como *Klebsiella* e *Enterobacter* comumente são isolados de ambientes não poluídos por matéria fecal como solo, vegetais e ambientes aquáticos naturais (CERQUEIRA; HORTA, 1999).

Para Cerqueira *et al.* (1999) em fezes humanas a contribuição da *E. coli* é praticamente de 100%. Esse percentual foi obtido após estudo sobre o perfil de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* em diferentes amostras de água (as espécies fecais não *E. coli*, como algumas dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter* são de ocorrência variável e não apresentam características fisiológicas ainda disponíveis que possam ser identificadas em sistemas *in vitro* de detecção. Os percentuais de ocorrência desses gêneros em fezes humanas e animais têm sido avaliados em vários estudos).

A presença de coliformes termotolerantes indica que houve contaminação pós-preparo, evidenciando práticas de higienização aquém dos padrões mínimos de segurança (GIACOMELLO *et al.*, 2008).

3.6. Incidência de contaminação microbiana em leite humano

Castro *et al.* (2008) quantificaram bactérias coliformes totais e *E. coli*, do LHOc recebido no BLH do Hospital “Santa Casa de Misericórdia” em Limeira, SP e encontraram

72,2% de amostras contaminadas por coliformes totais, com: 53,84% (14) amostras de 1 a 99 NMP/mL; 23,07% (6 amostras) de 10^2 a $9,9 \times 10^2$ NMP/mL; 3,84% (1 amostra) de 10^3 a $9,9 \times 10^3$ NMP/mL; 7,69% (2 amostras) de 10^4 a $9,9 \times 10^4$ NMP/mL; 7,69% (2 amostras) de 10^5 a $9,9 \times 10^5$ NMP/mL. Em relação à *Escherichia coli*, 55,5% de amostras estavam positivas, com: 90% (18 amostras) com populações de 1 a 99 NMP/mL; 5% (1 amostra) com 10^4 a $9,9 \times 10^4$ NMP/mL e 5% (1 amostra) com população de 10^5 a $9,9 \times 10^5$ NMP/mL.

Novak *et al.* (2001) analisaram 837 amostras de LHO, oriundas do BLH do Instituto Fernandes Figueira da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro e observaram que 71 (8,48%) estavam contaminadas com coliformes, porém, em nenhuma das amostras a população ultrapassou $1,0 \times 10^3$ NMP/mL. Após a identificação, os resultados obtidos revelaram a presença de três gêneros e cinco espécies da família Enterobacteriaceae nas 71 cepas estudadas. A maioria dos microrganismos 65 (91,6%) pertencia a apenas duas espécies, *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella pneumoniae*, sendo discreta a ocorrência de *E. coli*. As 71 cepas foram classificadas como: *E. cloacae* (56,4%), *K. pneumoniae* (35,2%), *E. coli* (4,2%), *Enterobacter sakazakii* (2,8%) e *Enterobacter taylorae* (1,4%). Os autores chamaram a atenção para a ocorrência de *E. coli*, admitindo-se o contato direto ou indireto das amostras com material de origem fecal e a presença de *E. sakazakii*, considerado um microrganismos emergente.

Pontes *et al.* (2003) analisaram 27 amostras de leite humano pasteurizado, fornecido às crianças internadas em um Hospital Público do Distrito Federal e relataram ter isolado 09 amostras (33,3%) positivas para coliformes totais e 07 amostras (25,9%) para coliformes termotolerantes.

3.7. Padrões e legislação

A Resolução RDC n° 12, de 12 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde, estabeleceu, pela primeira vez no Brasil, critérios para parâmetros microbiológicos para o LHOP de BLH, sendo: ausência de *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes totais (35°C) e contagem máxima de 10^2 UFC/mL para bactérias aeróbias mesófilas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

O projeto cumpriu as exigências da Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

Após explicações detalhadas, referentes à pesquisa, as doadoras que concordaram em responder ao questionário foram orientadas a assinar um Termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice E).

4.2. Local de coleta e amostragem

O BLH do Município de Taubaté, SP atende a população do município, que possui, aproximadamente, 270.000 habitantes, através do Hospital Universitário de Taubaté e demais hospitais de cidades vizinhas, como Pindamonhangaba e São José dos Campos.

Em fevereiro de 2009 o BLH de Taubaté possuía uma média de 80 doadoras cadastradas, sendo que no período de 01 a 28 de fevereiro foram coletadas 76 unidades amostrais de LHOC, em frascos esterilizados e com 10 mL cada. Todas as amostras eram oriundas de coleta domiciliar.

As amostras foram acondicionadas e transportadas em caixas isotérmicas, com gelo reciclável, mantidas em temperatura inferior a 5°C e houve um tempo médio de meia hora até chegarem ao Laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté (UNITAU), Taubaté, SP, onde, imediatamente, foram realizadas as análises microbiológicas.

As análises microbiológicas foram realizadas segundo a metodologia proposta por Downes e Ito (2001) e constaram de:

- Contagem de coliformes totais (35°C)

- Contagem de coliformes termotolerantes (45°C)

4.3. Estudo do perfil sócio-econômico e ambiental das doadoras

Para a realização deste estudo, aplicou-se um questionário (Apêndice F) às doadoras, com o objetivo de conhecer as condições sócio-econômicas e ambientais em que vivem as mesmas e suas práticas higiênico-sanitárias durante a coleta. Algumas questões foram formuladas com base em outros estudos (DINIZ *et al.*, 2004; SOUZA, 2006), outras foram desenvolvidas com indagações pertinentes ao presente estudo.

4.4. Seleção e rejeição de leite doado e as suas causas

Foram utilizados dados pertencentes ao BLH de Taubaté, a fim de identificar e quantificar o número de rejeição de LHOC e as causas.

4.5. Determinação do conteúdo energético do leite doado

Foram utilizados dados pertencentes ao BLH de Taubaté, a fim de identificar o conteúdo energético do leite doado.

O BLH de Taubaté segue as normas de funcionamento, prevenção e controle de riscos em BLH, preconizadas pela ANVISA (2008) para a verificação do conteúdo energético através da técnica do crematócrito. Amostras de leite humano são colocadas em tubos capilares e centrifugadas por 15 minutos, observando a velocidade que o fabricante da centrífuga indica para a realização do teste de micro-hematócrito, a fim de separar o creme e o soro do leite. O creme ocupa a parte posterior do capilar e corresponde à fração de coloração mais escura. O soro, de aspecto mais ralo, fica mais abaixo do creme. Com o auxílio de uma régua milímetro mede-se o comprimento da coluna de creme (mm) e da coluna total do

produto (creme + soro). De posse desses valores empregam-se fórmulas matemáticas para a determinação do conteúdo energético. Como para cada frasco de leite avaliado são colhidas três alíquotas em capilar, o valor final corresponde à média aritmética encontrada.

4.6. Fluxograma dos procedimentos

Os procedimentos foram realizados de acordo com a figura 1.

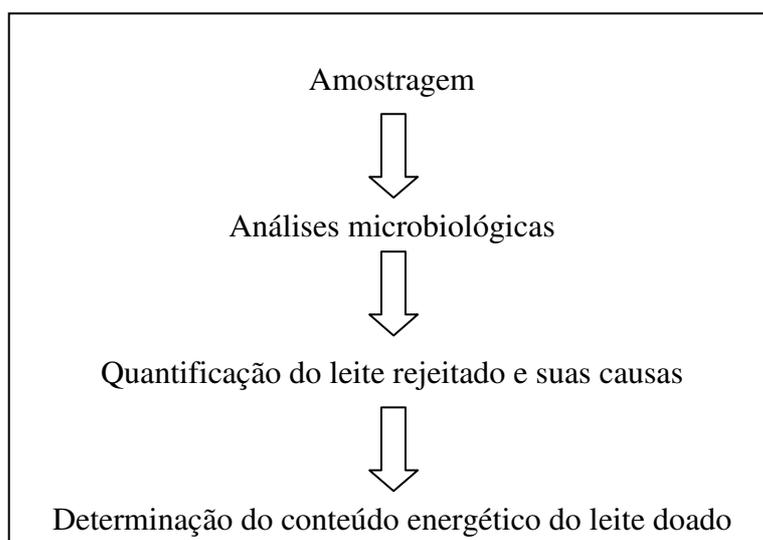


Figura 1 Fluxograma dos procedimentos

4.7. Análises microbiológicas

4.7.1. Determinação do Número Mais Provável (NMP/mL) de coliformes totais e coliformes termotolerantes

A) Preparo da amostra e diluições seriadas

Cada amostra de leite foi considerada como diluição 10^0 , sendo então retirada uma alíquota de 1,0 mL e adicionada em 9,0 mL de água peptonada 0,1%, constituindo esta a

diluição de 10^{-1} . Dessa diluição inicial foi transferida, novamente, 1,0 mL para 9,0 mL de água peptonada, sendo esta a diluição 10^{-2} até a diluição 10^{-3} (Figura 2).

B) Teste presuntivo

Usando-se a técnica dos tubos múltiplos foi transferido, assepticamente, alíquota de 1,0 mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} de amostra, previamente homogeneizada, para séries de 3 tubos, contendo 6,0 mL de caldo lactosado e tubos de Durhan invertidos, os quais foram incubados a 35 °C por 24/48 horas.

A determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes foi realizada mediante a Tabela de Hoskins e os resultados expressos em NMP/mL.

C) Quantificação de coliformes totais

Dos tubos, com caldo lactosado, positivos, ou seja, onde houve a produção de gás observados dentro dos tubos de Durhan, foram inoculados, com auxílio de alça de platina, para tubos com 6,0 mL de caldo verde brilhante bile lactose (VB) e incubados a 35°C por 24-48 horas. Havendo o crescimento, com produção de gás, foi considerado positivo para coliformes totais e determinado o NMP/mL.

D) Quantificação de coliformes termotolerantes

Dos tubos com caldo lactosado positivos, foram inoculados, com alça de platina, para tubos contendo 6,0 mL de caldo EC e tubos de Durhan invertidos e foram incubados em banho-maria a 45°C por 24-48 horas. Havendo crescimento com produção de gás, foi considerado positivo para coliformes termotolerantes e determinado o NMP/mL.

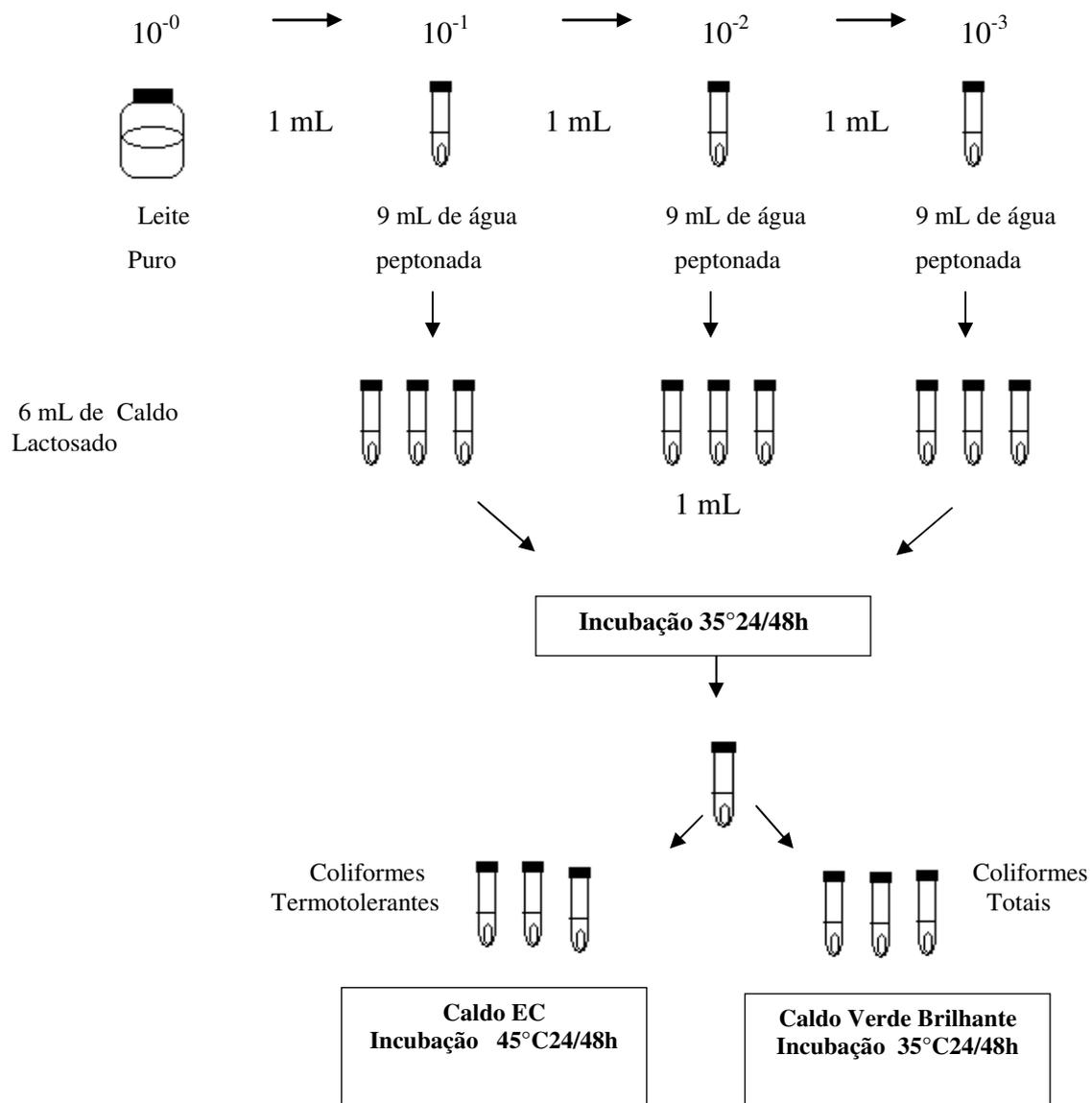


Figura 2: Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes, presentes em LHC, pelo Método do Número Mais Provável por Mililitro (NMP/mL). Baseado em Downes e Ito (2001)

4.7. 2. Delineamento estatístico

Trata-se de pesquisa descritiva, de corte transversal e com dados quali-quantitativos. Após os dados serem digitados em planilhas do programa Microsoft Excel para aferições, os mesmos foram apresentados em forma de gráficos e tabelas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes

Foram realizadas análises microbiológicas em 76 amostras de LHOC, dentre as quais estavam as 27 amostras das doadoras que responderam ao questionário (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes (NMP/mL) encontrados em 76 amostras de LHOC, procedentes do BLH de Taubaté, SP

Amostra	Respondeu ao questionário	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	Amostra	Respondeu ao questionário	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
1	não	4	4	39	não	93	<3
2	não	≥2400	15	40	sim	20	15
3	sim	≥2400	<3	41	não	93	7
4	sim	23	<3	42	não	≥2400	15
5	sim	1100	460	43	não	1100	<3
6	não	1100	<3	44	sim	≥2400	20
7	sim	28	<3	45	não	20	15
8	não	≥2400	<3	46	não	21	4
9	sim	<3	<3	47	não	≥2400	≥2400
10	sim	≥2400	210	48	não	≥2400	43
11	não	75	<3	49	não	≥2400	23
12	não	1100	<3	50	não	240	15
13	sim	21	<3	51	não	≥2400	≥2400
14	não	4	4	52	não	15	4
15	não	240	93	53	sim	150	<3
16	sim	240	<3	54	não	75	<3
17	não	4	<3	55	sim	≥2400	93
18	não	9	44	56	não	1100	210
19	não	≥2400	1100	57	não	15	4
20	não	≥2400	23	58	não	150	4
21	não	≥2400	<3	59	sim	≥2400	9
22	sim	20	<3	60	não	4	<3
23	sim	210	<3	61	não	1100	15
24	não	≥2400	4	62	não	1100	<3
25	sim	≥2400	<3	63	sim	9	<3
26	não	<3	<3	64	não	210	4
27	não	≥2400	28	65	não	≥2400	23
28	sim	9	9	66	não	≥2400	≥2400
29	não	≥2400	4	67	sim	15	4
30	sim	≥2400	<3	68	não	≥2400	460
31	sim	≥2400	460	69	não	≥2400	≥2400
32	não	≥2400	<3	70	não	<3	<3
33	sim	≥2400	15	71	não	9	4
34	sim	≥2400	460	72	não	23	<3
35	sim	210	210	73	não	150	<3
36	sim	28	4	74	não	<3	<3
37	sim	28	<3	75	não	460	15
38	sim	≥2400	4	76	não	≥2400	43

Embora a RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001 não especifique limites para coliformes em LHOC, a presença de microrganismos de tal grupo pode refletir condições higiênico-sanitárias não satisfatórias do alimento.

No presente estudo houve positividade de 100% para coliformes totais e coliformes termotolerantes, o que demonstra falta de cuidados higiênico-sanitários durante a ordenha, coleta e armazenamento do LHOC.

A quantificação de coliformes totais mostrou que 4 amostras (5,27%) apresentaram <3 NMP/mL e 30 amostras (39,48%) \geq 2400 NMP/mL, conforme figura 3:

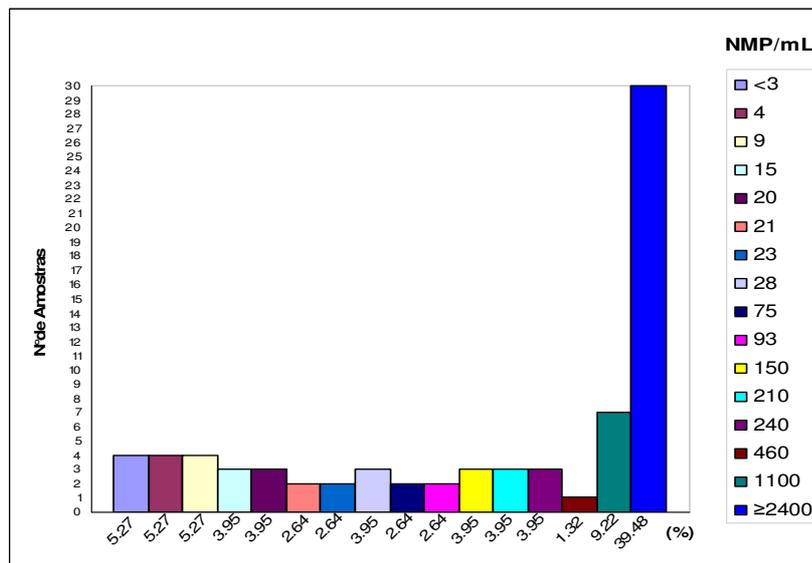


Figura 3: Distribuição de coliformes totais em 76 amostras de Leite Humano Ordenhado Cru, coletadas no Banco de leite humano em Taubaté, SP

Para coliformes termotolerantes verificou-se que 30 amostras (9,48%) apresentaram <3 NMP/mL e 4 amostras (5,27%) estavam com níveis para coliformes termotolerantes acima de 2400 NMP/mL, conforme mostrado na figura 4:

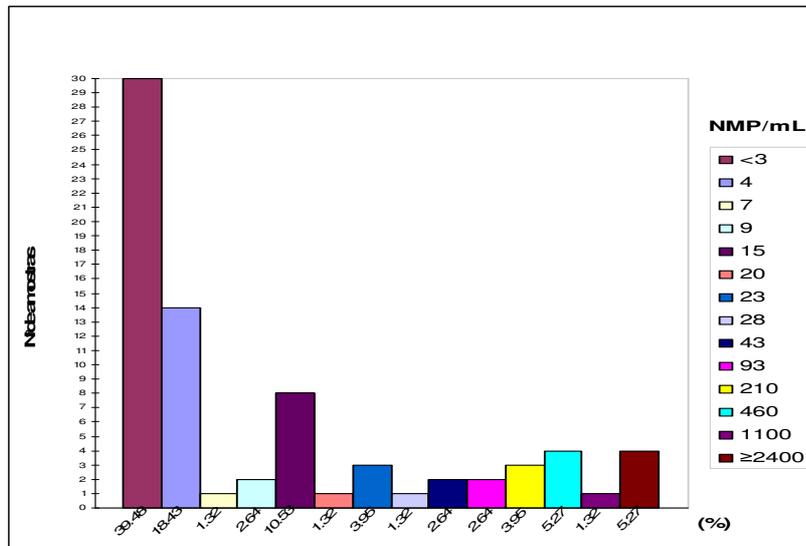


Figura 4: Distribuição de coliformes termotolerantes em 76 amostras de Leite Humano Ordenhado Cru, coletadas no Banco de leite humano em Taubaté, SP

Novak *et al.* (2008) observaram a ocorrência de 53,3% para coliformes totais e 16,7% para coliformes termotolerantes em 30 amostras de LHOC e rejeitadas pelo controle de qualidade de um BLH.

Costa *et al.* (2004) observaram a presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes em 14 (47%) amostras de LHOC proveniente do BLH Anita Cabral, em João Pessoa no Estado da Paraíba, sendo que os valores de coliformes totais e coliformes termotolerantes variaram ambos $<0,3$ a $2,4 \times 10^2$, havendo predominância de amostras com valores $<0,3$. O NMP de *E. coli* foi detectado em elevada concentração ($2,4 \times 10^2$ UFC/mL) em apenas uma amostra, observando-se que as demais tiveram contagem $<0,3$ para este microrganismo. Do isolamento e identificação dos microrganismos, obteve-se: *E. coli* 1/55 (1,8%), *K. pneumoniae* 14/55 (25,5%), *P. aeruginosa* 3/55 (5,5%), *E. faecalis* 2/55 (2,6%)

Assis Neto *et al.* (2001) verificaram contagens de coliformes totais e coliformes termotolerantes variando de $<0,3$ a 240 NMP/mL em amostras de leite humano cru do BLH

da Maternidade Evangelina Rosa, em Teresina, PI. Não foi constatada presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes no leite pasteurizado.

5.2. Perfil das 27 doadoras que responderam ao questionário e tiveram amostras de LHOC analisadas

A maioria declarou ser de cor branca (23 doadoras - 85,18%), católicas (16 doadoras - 59,25%) e nascidas no Estado de SP (20 doadoras - 74,07 %).

Quanto à ocupação, 12 doadoras (44,4%) são donas de casa, 13 (48,14%) trabalham fora e 02 (7,4%) são estudantes.

Daroz (2009) analisou as fichas de 793 doadoras cadastradas no BLH do Hospital Fornecedores de Cana, no município de Piracicaba, entre maio de 2006 a julho de 2009, e observou que 507 doadoras (64%) eram brancas e em 214 (27%) das fichas não havia registro da cor da pele, e que 650 doadoras (82%) nasceram na região sudeste.

Além disso, a maioria teve somente 01 gestação (13 doadoras - 48,14%) e 01 filho (15 doadoras - 55,55%), todas fizeram o pré-natal, sendo que a maioria utilizou a rede particular de saúde (15 doadoras - 55,55%) e parto cesariana (16 doadoras - 59,25%).

Barbosa (2009) realizou entrevista com 50 doadoras, cadastradas no BLH em Taubaté, SP e mostrou que 16 doadoras (32%) tiveram seus filhos por parto normal, 33 (66%) submeteram-se ao parto cesáreo e 1 doadora (2%) optou por outro tipo de parto. Todas as doadoras realizaram o pré-natal.

Dias *et al.* (2006) mostraram que de 48 doadoras cadastradas no BLH do Hospital Universitário Regional de Maringá, Estado do Paraná, 36 (75%) realizaram parto cesariana e 12 (25%) tiveram seus filhos através do parto normal.

O alto número de cesarianas realizadas contraria a recomendação do Ministério da Saúde que incentiva o parto normal. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que apenas 15% dos partos sejam realizados com intervenção cirúrgica – porcentagem referente aos partos de risco, aqueles em que a cesárea é indispensável. A média no Brasil é de 43% de cesarianas e entre as mulheres que utilizam plano de saúde esse índice chega a 80% (JUNGMANN, 2008).

Para Tedesco *et al.* (2004) um fator associado à preferência pelo parto cesariana é o elevado grau de instrução da mulher, o que se confirma por essa pesquisa, pois 10 (37%) das doadoras possuem o ensino médio e 08 (29,62%) o nível superior.

Outro fator associado à preferência pelo parto cesariana poderia ser devido a desinformação durante o pré-natal e o medo da dor por parte das gestantes, aliada à óbvia preferência que alguns médicos do sistema particular têm pelo parto cesariana, talvez pelo fato de que possa ser marcado, com antecedência, na agenda.

5.3. Procedimentos de ordenha, coleta, armazenamento e a qualidade higiênico-sanitária do LHOC

Dentre as 11 doadoras que apresentaram contagens de ≥ 2400 NMP/mL para coliformes totais, 01 doadora declarou não lavar as mãos com água e sabão antes da ordenha, 04 doadoras não usavam touca e nenhuma utiliza máscara durante a ordenha. Das 03 doadoras que apresentaram contagens de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, 01 doadora também não praticava a higiene das mãos antes da ordenha e nenhuma usava touca ou máscara. A única doadora que apresentou contagem de < 3 NMP/mL para coliformes totais afirmou lavar as mãos, usar touca e máscara, e dentre as 13 doadoras que apresentaram contagens de < 3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, todas lavavam as mãos, 06

doadoras não usavam a touca durante o ato da ordenha e 11 doadoras negaram o uso da máscara.

Desta forma pode-se concluir que a lavagem de mãos antes da ordenha é de grande importância para o controle da qualidade higiênico-sanitária do leite. Vale lembrar que as Normas Técnicas para a Rede BLH-BR preconizam a lavagem cuidadosa das mãos com água e sabão, além da escovação das unhas antes da ordenha, sendo o uso de máscara e touca facultativo na coleta domiciliar. O BLH em Taubaté oferece máscaras e toucas para o uso das doadoras.

Quanto ao uso de frasco para o armazenamento do LHO, 06 doadoras, que apresentaram contagens ≥ 2400 NMP/mL de coliformes totais, afirmaram usar o frasco esterilizado fornecido pelo BLH e também frasco próprio para o armazenamento do LHO e dessas, houve 01 doadora que afirmou ferver somente os frascos por 15 minutos antes do uso, não fervendo também a tampa. E 01 doadora, com contagem de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, afirmou usar os frascos fornecidos pelo BLH, que são esterilizados, porém, fervendo por 15 minutos os frascos e as tampas antes do uso. A única doadora que apresentou contagem de < 3 NMP/mL para coliformes totais usava, exclusivamente, os frascos fornecidos pelo BLH, não fervendo os mesmos e dentre as 13 doadoras que apresentaram contagens de < 3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, verificou-se que 01 doadora usava, exclusivamente, o frasco estéril fornecido pelo BLH, porém, a mesma afirmou ferver os frascos e as tampas por 15 minutos antes do uso.

Observou-se, portanto, que a coleta do leite realizada em frascos fornecidos pelo BLH resulta em menor contaminação. O uso de outros frascos é inadequado, pois, a contaminação apresentada por várias destas amostras sugerem que as doadoras não realizam a esterilização dos frascos e das tampas de forma adequada.

Com relação ao armazenamento do LHOC, das 11 doadoras que apresentaram contagens de ≥ 2400 NMP/mL para coliformes totais verificou-se que 03 doadoras armazenavam em congelador, sendo que dessas, 01 doadora, afirmou usar a temperatura média, as outras 02 não responderam; 07 doadoras armazenavam em freezer, com 01 dessas doadoras usando a temperatura de -10°C , enquanto que as outras não responderam e 01 doadora afirmou armazenar em geladeira, porém não informou a temperatura. Das 03 doadoras que apresentaram contagens de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, 02 doadoras armazenavam em geladeira e 01 doadora armazenava em freezer, mas, nenhuma respondeu qual a temperatura de armazenamento. A única doadora que apresentou contagem de <3 NMP/mL para coliformes totais armazenava em congelador, mas não informou a temperatura e dentre as 13 doadoras que apresentaram contagens de <3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, 01 armazenava em geladeira, em $+8^{\circ}\text{C}$, 03 doadoras usam o congelador, mas não informaram a temperatura, as demais armazenavam em freezer, sendo que 01 doadora afirmou desconhecer a temperatura de armazenamento, 01 doadora armazenava em temperatura média e as demais não responderam.

Pode-se observar a falta de controle, por parte das doadoras, sobre a temperatura de armazenamento do LHOC, o que poderia interferir de forma negativa na qualidade do produto.

Rona (2004) sugeriu o congelamento do LHOC imediatamente após a coleta, pois a acidez Dornic apresenta alta variabilidade quando o leite é estocado por 4 horas à temperatura ambiente ou em 24 horas sob refrigeração.

Covas *et al.* (2000) demonstraram que o LHOC armazenado em *freezer* (-20°C) durante 15 dias permaneceu com uma estabilidade química quase idêntica à obtida com o leite recém-extraído, enquanto que sob refrigeração (4°C) por quatro dias, sofreu reações lipolíticas

e proteolíticas, as quais liberaram ácidos graxos e aminoácidos livres, ocasionando o abaixamento do pH. Também Galhardo *et al.* (2002) sugeriram que a acidez Dornic não está somente relacionada com a qualidade higiênico-sanitário, mas à oxidação lipídica que ocorre durante o armazenamento.

Moulin (1998) em estudo sobre a presença de *Escherichia coli* no leite humano, em temperatura variando de 17 e 30,5°C e nos tempos zero, três e nove horas após expressão manual, verificou que minutos após a coleta do leite, o número de bactérias por mL era de 7,1 mil, com esse índice subindo para 7,3 mil, 9 horas após a coleta e concluiu que a utilização do LHOC, coletado por expressão manual e mantido à temperatura ambiente por até nove horas, possibilita uma alternativa para manter o aleitamento materno por maior período de tempo.

Das 11 doadoras que apresentaram contagens de ≥ 2400 NMP/mL para coliformes totais, somente 05 doadoras faziam a ordenha de forma manual, 09 doadoras usavam a bomba tira leite e 10 doadoras afirmaram usar e doar o leite da concha para os seios. Dentre as 03 doadoras que apresentaram contagens de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, 01 doadora fazia ordenha manual, 01 doadora usava a bomba tira leite e todas as 03 doadoras usam a concha para os seios e doam o leite da concha. A doadora que apresentou contagem de < 3 NMP/mL para coliformes totais não fazia ordenha manual, usa bomba tira leite, usa a concha para os seios e doa o leite da mesma. Já dentre as 13 doadoras que apresentaram contagens de < 3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, 06 doadoras realizam a ordenha manual, 06 doadoras usam bomba tira leite e todas usam e doam o leite da concha de seios.

Não mostrou fazer diferença, em relação à contaminação microbiológica, o fato da doadora realizar a ordenha de forma manual ou com o auxílio de bombas tira leite, ou mesmo da doação do produto que permanece na concha para os seios.

No entanto, tendo em vista a predominância e o alto número de bombas tira leite e concha para seios que estão em contato direto com o LHOC, seria aconselhável que o BLH de Taubaté reorientasse as doadoras quanto ao uso e a higienização desses instrumentos, pois, os mesmos podem contribuir para o aumento da contaminação do leite.

5.4. Condições ambientais das doadoras e a qualidade higiênico-sanitária do LHOC

Em relação à presença de animais na residência, das 11 doadoras que apresentaram contagens ≥ 2400 NMP/mL para coliformes totais, 08 doadoras possuíam gatos, cachorros e outros animais, 03 doadoras não responderam ao questionário, no entanto, verbalmente essas doadoras, afirmaram não possuir animais em casa. Dentre as 03 doadoras que apresentaram contagens de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, 02 doadoras possuem gato e cachorro, respectivamente, enquanto que 01 doadora, verbalmente, afirmou não possuir animal em casa. A doadora, que apresentou contagem de < 3 NMP/mL para coliformes totais, afirmou, verbalmente, não possuir animal em sua residência e das 13 doadoras, que apresentaram contagens de < 3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, verificou-se que 07 doadoras possuem gatos ou cachorros, enquanto que 06 doadoras afirmaram não possuir animais.

Constatou-se que a presença de animais nas residências das doadoras contribuiu para a maior contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Das 27 doadoras que responderam ao questionário, 10 afirmaram terem tido casos de diarreia em casa nos seis meses que antecederam à pesquisa e os resultados das análises microbiológicas mostraram que 05 (50%) dessas doadoras apresentaram contagens para coliformes totais de ≥ 2400 NMP/mL.

A fonte de água de consumo das 27 doadoras (100%) é água de torneira, fornecida pelo Serviço de Abastecimento de Água Municipal, sendo que todas possuem água corrente na cozinha e no banheiro, com o esgoto sanitário ligado à rede coletora municipal, o que significa que as doadoras têm acesso à água cujos parâmetros microbiológicos, físicos e químicos atendem ao padrão de potabilidade estabelecido na Portaria nº 518 do Ministério da Saúde, de 24 de março de 2004.

E a destinação adequada dos dejetos implica no não lançamento desse material diretamente no solo ou na canalização de forma irregular para os cursos d'água mais próximos, evitando os riscos que os sistemas e as soluções alternativas possam representar como agravante para a poluição ambiental no entorno da moradia.

É importante ressaltar que embora o município de Taubaté possua uma boa estrutura de coleta de esgoto, infelizmente, ainda não tem 100% desse esgoto sendo tratado, ou seja, grande parte ainda é lançado *in natura* no rio Paraíba do Sul, cujas águas servem para o abastecimento de milhares de pessoas nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. A situação mostra-se ainda mais alarmante devido ao fato de que a mais notória e prejudicial fonte de poluição da bacia do rio Paraíba do Sul são os efluentes domésticos e os resíduos sólidos oriundos das cidades de médio e grande porte localizadas às margens do rio.

A totalidade, ou seja, 27 doadoras (100%) afirmaram possuir ruas e calçadas pavimentadas em frente as suas residências, assim como todas as doadoras afirmaram possuir sistema de coleta pública dos resíduos sólidos.

A presença de ruas e calçadas pavimentadas significa melhor qualidade de vida para os moradores e a coleta domiciliar do lixo é um importante serviço de limpeza urbana, pois, a falta de remoção do resíduo pode provocar o descarte de forma inadequada e conseqüentemente, gerar a proliferação de vetores. Tendo em vista que 100% das doadoras

vivem em um ambiente provido dessa infra-estrutura esse parâmetro não influenciou na avaliação dessas condições em relação à qualidade higiênico-sanitária do LHOC.

O saneamento básico é um dos principais indicadores na avaliação das moradias devido ao papel que desempenha nas condições ambientais da saúde da população. A articulação dos serviços públicos com a política ambiental está explicitada na Lei nº 11.445/07, também conhecida como a Lei do Saneamento, que determina que os serviços públicos de Saneamento Básico sejam realizados de forma adequada à saúde pública e à proteção do meio ambiente.

Infelizmente, como a maioria dos municípios brasileiros, Taubaté não possui Aterro Sanitário, sendo os resíduos sólidos produzidos no município escoados para um lixão.

Todas as doadoras apontaram mais de 3 moradores na residência, somente 01 doadora (≥ 2400 NMP/mL de coliformes totais) vive em 02 cômodos, o restante possui no mínimo 04 cômodos nos domicílios.

Pode-se considerar que a densidade de habitantes e o tamanho dos domicílios são adequados, levando-se em conta que uma aglomeração de pessoas em um domicílio pequeno, pode fazer com que a doadora, por questão de modéstia, realize a ordenha no banheiro, o que, por sua vez, poderia refletir-se na qualidade sanitária do LHOC.

5.5. Condições sócio-econômicas das doadoras e a qualidade higiênico-sanitária do LHOC

Segundo Galvão *et al.* (2006) as características das doadoras influenciam na decisão de doarem seu leite. Santos *et al.* (2006) salienta que as doadoras são nutrizas de classe econômica mediana e com um bom nível de escolaridade, o que facilita a compreensão das

informações sobre a importância do aleitamento materno e, portanto da doação de leite materno.

Confrontando as respostas das 11 doadoras que apresentaram contagens de ≥ 2400 NMP/mL para coliformes totais, verificou-se que a maioria possuía o ensino fundamental, ou seja, 05 doadoras, enquanto que somente 02 doadoras possuíam nível superior. Já as 03 doadoras que apresentaram contagens de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, possuíam o seguinte nível de escolaridade: 02 doadoras com ensino fundamental e 01 doadora com ensino médio. Por outro lado, a doadora que apresentou contagem para coliformes totais < 3 NMP/mL possui o ensino médio. Já as 13 amostras que apresentaram contagens de < 3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, foram doadas por 02 doadoras que possuíam ensino fundamental, 05 doadoras com ensino médio e 06 doadoras com nível superior.

As amostras com menor índice de contaminação microbiológica eram provenientes de doadoras com maior nível de escolaridade, o que leva a supor que o maior grau de escolaridade tem relação positiva com maior conhecimento relativo aos cuidados higiênico-sanitários que devem ser seguidos na manipulação do leite.

Em relação à renda familiar, constatou-se que as 11 doadoras que apresentaram contagens ≥ 2400 NMP/mL para coliformes totais possuíam a seguinte distribuição: 02 doadoras com renda de 02 salários mínimos, 02 doadoras com 03 salários mínimos, 03 doadoras com 04 salários mínimos, 03 doadoras com 05 salários mínimos e somente 01 doadora têm renda familiar de mais de 05 salários mínimos. Enquanto que as doadoras que apresentaram contagens de 460 NMP/mL para coliformes termotolerantes, possuíam a seguinte renda familiar: 01 doadora com 02 salários mínimos, 01 doadora com 03 salários mínimos e 01 doadora com 04 salários mínimos. A única doadora que apresentou contagens de < 3 NMP/mL para coliformes totais, possui renda familiar de 03 salários mínimos. E as 13

doadoras que apresentaram contagens de <3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, mostraram as seguintes distribuições de renda familiar: 02 doadoras com 02 salários mínimos, 02 doadoras com 03 salários mínimos, 03 doadoras com 04 salários mínimos, 02 doadoras com 05 salários mínimos e 04 doadoras com mais de 05 salários mínimos.

Houve uma variação no valor do rendimento médio mensal familiar das doadoras, tanto nas que apresentaram em suas amostras os maiores índices de contaminação, quanto das doadoras, cujas amostras mostraram menores índices de contaminação. Portanto, a renda familiar não mostrou ser um fator importante para a comparação dos níveis de contaminação microbiológica.

Os resultados das análises microbiológicas que atestaram a qualidade higiênico-sanitária do LHOC e o conhecimento sobre as condições higiênico-sanitárias e ambientais em que vivem as doadoras dessas amostras podem proporcionar subsídios para que o BLH de Taubaté aprimore as ações educativas que desenvolve junto às doadoras, ao quadro de funcionários, e também em sua própria logística.

5.6. Índice de reprovação das amostras de LHOC

No mês de fevereiro de 2009, foram triadas pelo BLH de Taubaté 312 amostras de LHOC (Tabela 2), doadas por 80 doadoras. Desse total, 52 amostras (16,66%) foram reprovadas, sendo: 32 amostras (10,26%) devido à acidez Dornic elevada, isto é, entre 10°D a 15°D , 19 amostras (6%) devido à presença de sujidades como presença de formigas, cabelos, fiapos de cobertores e partículas não identificadas e 1 amostra (0,32%) devido à presença de trinca no vidro, ocasionada durante o descongelamento. Essas 52 amostras de leite reprovadas ocasionaram o descarte de 16,34 litros de leite humano doados.

Tabela 2: Índice de reprovação de amostras de LHOC, após triagem realizada pelo BLH em Taubaté, no mês de fevereiro de 2009

Total de amostras	Amostras reprovadas 52 (16,66%)			Quantidade de leite humano desprezado (Litros)
312	Acidez Dornic	Sujidades	Trinca no frasco	16,34
	32 (10,26%)	19 (6%)	01 (0,32%)	

Silva e Almeida (2001) analisaram a relação entre acidez Dornic e o crescimento bacteriano em LHOC a 37°C, os resultados revelaram que, após 4 horas, o crescimento de mesófilos no leite maduro permitiu a elevação progressiva da acidez Dornic. Na amostra de colostro, o aumento significativo da acidez Dornic ocorreu apenas após 16 horas de incubação, quando o crescimento bacteriano elevou-se 28 vezes do valor inicial. Segundo os autores, a diferença decorreu, possivelmente, da maior quantidade de fatores protetores no colostro. O estudo concluiu que, além do rigor higiênico-sanitário, o grau de contaminação do produto sofre influência direta de seus fatores de proteção.

Com base nos dados do protocolo do Laboratório do BLH da FSCM-PA (Fundação Santa Casa de Misericórdia, no Estado do Pará, durante o primeiro trimestre de 2006, Dantas *et al.* (2006) analisaram o controle de qualidade do leite doado. Revendo os resultados dos testes microbiológicos e físico-químicos realizados observaram por meio desses que, das 3.857 amostras analisadas, 3.450 foram aprovadas e 407 foram descartadas por apresentarem acidez Dornic maior que 8°D, o que representa 89% e 11% respectivamente. Das amostras analisadas o maior valor de acidez Dornic observado foi de 45,0°D, o menor foi de 1,0°D e o valor médio foi de 4,6°D. As 3.450 amostras aprovadas no teste de acidez Dornic foram

submetidas ao teste microbiológico e todas foram aprovadas pela ausência de coliformes fecais.

Bortolozo *et al.* (2004) demonstraram o crescimento bacteriano e a elevação da acidez Dornic em amostras de leite pasteurizado e congelado. O estudo chama a atenção para a possibilidade da contaminação e alteração da estabilidade físico-química do leite pasteurizado em função da manipulação, após sua distribuição para o consumo.

Scarso (2008) analisou 72 amostras de LHOC do BLH do Conjunto Hospitalar de Sorocaba, com valores de acidez Dornic conhecidos e verificou que quarenta e oito amostras (66%) apresentavam níveis de acidez Dornic aceitáveis (até 8° D) e outras 24 amostras (34%) apresentavam níveis de acidez Dornic acima desse limite. Nas amostras com valor de acidez Dornic <8°D, foram isolados coliformes totais em 34 amostras (47,2%) e destas, 29 amostras (87,5%) confirmaram também a presença de *E. coli*. Nas amostras rejeitadas (acidez Dornic >8°D) o grupo dos coliformes foi detectado em 12 amostras (52,94%), destas 3 amostras (33,33%) apresentaram crescimento de *E. coli*.

No período em que durou o estudo supracitado, Scarso (2008) observou que o BLH de Sorocaba mantinha um estoque de leite baixo, suficiente para atender apenas os recém-nascidos prematuros da Unidade de Terapia Intensiva, com o agravante de que uma quantidade expressiva de LHOC recebida era desprezada por apresentarem sujidades como: pêlo, cabelo, fiapo de tecidos entre outros.

5.7. Identificação do conteúdo energético do LHOC

Os resultados do teste de crematócrito realizados nas 312 amostras de LHOC que foram triadas pelo BLH, no mês de fevereiro, apresentaram o seguinte conteúdo energético: 12 amostras (3,85%) apresentaram valores entre 400-500 calorias/L, 103 amostras (33%) apresentaram valores entre 501-600 calorias/L, 144 amostras (46,15%) apresentaram valores entre 601-700 calorias/L, 49 amostras (15,7%) tiveram valor calórico entre 701-800 calorias/L e 4 amostras (1,28%) apresentaram valores acima de 801 calorias/L, conforme figura 5:

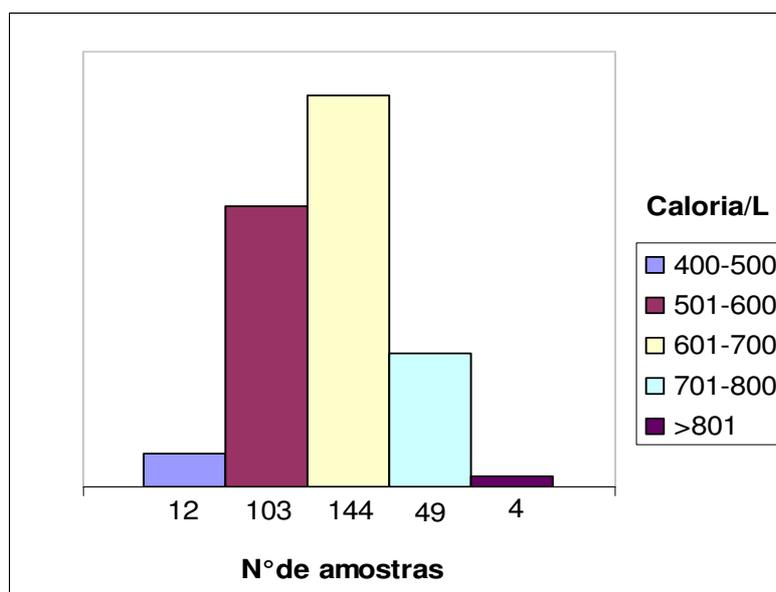


Figura 5: Distribuição do conteúdo energético apresentado em 312 amostras de LHOC, triadas pelo BLH em Taubaté, SP

Vieira *et al.* (2004) avaliaram o conteúdo energético de 61 amostras de LHOC do Instituto Fernandes Figueira e identificaram uma média do conteúdo energético de 85,9 kcal/100 ml .

Segundo Vieira *et al.* (2004) o suporte nutricional é reconhecido como um dos principais pilares no tratamento de recém-nascidos com muito baixo peso (RNMBP) e a preocupação com a baixa velocidade de ganho de peso desses bebês alimentados

exclusivamente com o leite humano leva, muitas vezes, ao uso de fórmulas lácteas sem uma avaliação prévia da qualidade do leite humano oferecido.

Sacramento *et al.* (2004) ressalta que na utilização exclusiva de leite humano procedente de BLH é fundamental que se tenha controle do valor calórico final ofertado para que se possa assegurar ganho de peso satisfatório ao bebê. Portanto, o uso de medidas que permitam a avaliação do conteúdo energético do leite humano nas unidades neonatais pode contribuir para a manutenção deste como alimento preferencial para o bebê.

6. CONCLUSÃO

Houve positividade de 100% para coliformes totais e coliformes termotolerantes, o que demonstra falta de cuidados higiênico-sanitários durante a ordenha, coleta e armazenamento do LHOC.

Coliformes totais ≥ 2400 NMP/mL em 30 amostras (39,48%) mostrou que o emprego inadequado de normas higiênico-sanitárias durante a obtenção e manipulação do leite humano ordenhado cru são fatores que favorecem um crescimento microbiano significativo no leite.

Coliformes termotolerantes ≥ 2400 NMP/mL em 4 amostras (5,27%) mostrou a falta de cuidados com o leite ordenhado com respeito às técnicas inadequadas de coleta, má higienização de mãos e mama antes da coleta e manutenção do LHOC em condições abusivas antes do congelamento.

Foi semelhante à contaminação do leite segundo o tipo de ordenha: por expressão manual, com auxílio de bombas tira leite ou o leite da concha.

As amostras com menor índice de contaminação microbiológica eram provenientes de doadoras com maior nível de escolaridade.

As doadoras eram nutrízes com um bom nível de escolaridade, sendo que a maioria trabalhava fora de casa, de cor branca, católicas e nascidas no Estado de SP.

Todas realizaram o pré-natal, sendo que a maioria utilizou a rede particular de saúde, submeteu-se ao parto cesariana e apenas 01 filho.

Todas possuíam serviços de saneamento básico, em suas residências, como: água canalizada, provinda pela rede pública municipal, rede coletora de esgoto e coleta de lixo.

A renda familiar não mostrou ser um fator de influência para os níveis de contaminação microbiológica apresentados.

Como 100% das doadoras viviam em um ambiente provido de saneamento básico esse parâmetro também não influenciou na avaliação dessas condições em relação à qualidade higiênico-sanitária do LHOC.

A presença de animais nas residências das doadoras contribuiu para a maior contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Das doadoras que afirmaram terem tido casos de diarreia em casa, 05 (50%) apresentaram contagens para coliformes totais ≥ 2400 NMP/mL.

Em fevereiro/2009, 52 (16,66%) amostras de LHOC foram reprovadas, devido à acidez Dornic elevada, presença de sujidades e de trinca no vidro. As amostras reprovadas ocasionaram o descarte de 16,34 litros de leite humano doados.

O conteúdo energético do LHOC variou de 400 calorias/L a valores acima de 801 calorias/L, justificando-se a necessidade de triagem do valor calórico oferecido de acordo com a necessidade de ganho de peso do bebê.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.A.G.; NOVAK, F.R.; SERVA, V.B. Avaliação parcial da flora microbiana do leite humano ordenhado no IMIP. **Revista do Instituto Materno Infantil de Pernambuco**, v.3, p.13-6, 1989.

ALMEIDA, J.A.G.; GOMES, R.; NOVAK, F.R. Amamentação: Um Híbrido Natureza-Cultura. **Jornal de Pediatria**, v.80, n.5, p.119-125, 2004.

ARCURI, E.F. *et al.* Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 440-446, 2006.

ASSIS NETO, A.C. *et al.* Perfil microbiológico do leite materno do banco da maternidade Evangelina Rosa Teresina (Piauí). **Boletim do Centro de Pesquisas de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 7584, jan./jun. 2001.

AZEREDO, C.M. *et al.* Avaliação das condições de habitação e saneamento: a importância da visita domiciliar no contexto do Programa de Saúde da Família. **Revista Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.12, n. 3, mai/jun. 2007.

BARBOSA, L.M.M. **Estado nutricional e ingestão alimentar de doadoras de leite humano do banco de leite do Município de Taubaté**. 2009. 55p. (Trabalho de Conclusão de Curso). Bacharelado em Nutrição - Universidade de Taubaté/SP, 2009.

BORGIO, L.A. *et al.* Avaliação do funcionamento e identificação de pontos críticos de controle, em bancos de leite humano no Distrito Federal. **Revista Higiene Alimentar**, vol.19, n° 123, mar. 2005.

BORTOLOZO, E.F.Q. *et al.* Padrão microbiológico e sanitário do leite humano, processado em banco de leite. **Revista Higiene Alimentar**, v, 12, p. 85-8, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 12, de 02/01/2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde/Organização Pan-americana da Saúde (OPAS/OMS). Brasília: MS; 2004. **Projeto de Desenvolvimento de Sistemas e Serviços de Saúde: experiências e desafios da atenção básica e saúde familiar: caso Brasil.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 171, de 04 de setembro de 2006. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano.** Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 05 de setembro de 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/** Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portal da Saúde.** Brasília: 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=10610> Acesso em: 07/02/2010.

CERQUEIRA, D.A *et al.* Coliformes fecais não existem. 20º **Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental.** Rio de Janeiro, p.1239-1243, 1999.

CLARK, R.; GUNDRY, S. W. The proeminence of health in donor policy for water supply and sanitation: a review. **Journal of Water and Health.** v. 2, n. 3, p. 157-169, 2004.

COSTA, AC. **Caracterização microbiológica e determinações químicas em leite humano cru e pasteurizado proveniente do Banco de Leite Anita Cabral -** Complexo de Saúde de Cruz das Armas do Município e João Pessoa/PB- (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal da Paraíba/João Pessoa, 78p. 2001.

COSTA, A.C.; SOUSA, C.P.; FILHO, L.S. Caracterização microbiológica do Leite Humano processado em banco de leite de João Pessoa – PB. **Revista Brasileira de Análises Clínicas,** v.36, n. 4, p. 225-229, 2004.

COSTA, E. A. Vigilância sanitária: proteção e defesa da saúde. São Paulo: **Sobravime,** 2004.

COSTELLO, M.; DOUCHERTY, R.H.; KANG, D. The relationship between standard plate counts and coliform counts in raw milk. Dairy, **Food and Environmental Sanitation,** v.21, n.9, p.749-751, 2001.

COUTO, R.C., PEDROSA, T.M.G., NOGUEIRA, J. M. **Infecção Hospitalar e outras complicações não infecciosas da doença – Epidemiologia, controle e Tratamento**. 3ª ed. Medsi Editora Médica e Científica Ltda. RJ, 2003.

COVAS, M.C.; ALDA, E.; BAEZA, A.; FERRER, L.; FERRANDEZ, C. Almacenamiento de leche humana: sua influência em la composición química y desarrollo bacteriano en tres momentos de la lactancia. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 98, p. 92-98, 2000.

CURY, M.T.F. Aleitamento materno. In: In: Accioly E, Saunders C, Lacerda EMA. **Nutrição em Obstetrícia e Pediatria**. Rio de Janeiro: Cultura Médica. Reimpressão, 2003.

ESCUDEIR M.M.L.; VENANCIO S.I.; PEREIRA, J.C.,R. Estimativa de impacto da amamentação sobre a mortalidade infantil. **Caderno de Saúde Pública**, v.37, n. 3, p. 319-325, 2003.

DANTAS, M.E.B.S.; AUGUSTO, E.O.; BOTELHO, I.S. Análise do controle de qualidade do leite doado para o banco de leite humano da FSCM-PA. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20, n. 4 out-dez. 2006.

D'AGUILA, P.S. *et al.* Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Caderno de Saúde Pública**, v.16, n. 3, p. 791-8, 2000.

DAROZ, S.M. Análise do perfil das doadoras de leite materno do Hospital Fornecedores de Cana, em Piracicaba. **7ª Mostra Acadêmica UNIMEP/17º Congresso de Iniciação Científica**. Universidade Metodista de Piracicaba/SP. 2009.

DIAS, R.C.; BAPTISTA, I.C.; GAZOLA, S. Perfil das doadoras do banco de leite humano do Hospital Universitário de Maringá, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum Health Health Sciences**. Maringá, v.28, n.2, p. 153-158, 2006.

DINIZ, A.B. *et al.* Influência do perfil sócio-econômico no Aleitamento Materno em Salvador- Bahia. **Gazeta Médica da Bahia**, 77 (suplemento 1): S13-S22, 2007.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Whashington:APHA, 2001.600p.

FIOCRUZ. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Qualidade em Bancos de Leite Humano**, 2003.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002, p.424.

GALHARDO A.N.S.M. *et al.* Acidez Dornic como parâmetro de qualidade em bancos de leite humano. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n. 6-27, 2002.

GALVÃO, M.T.G. *et al.* Mulheres doadoras de leite humano. **Acta Paulista de Enfermagem**, Ceará, 2006.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

GIACOMELLO, S. *et al.* Qualidade microbiológica de cachorros-quentes produzidos e comercializados em vias públicas e lanchonetes próximas da Universidade Regional Intergradada – Campus de Frederico Westphalen, RS. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.163, jul. 2008.

GÓES, J.A.W.; *et al.* Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Revista Higiene alimentar**, São Paulo, v.15, n. 82, p.20-23, mar. 2001.

GUIMARÃES, V.; ALMEIDA, J.A.G; NOVAK, F.R. **Normas Técnicas para o Banco de Leite Humano**. Rio de Janeiro, s.n, 2006. Disponível:<[HTTP://WWW.bvsm.icict.fiocruz.br/normastecnicas/higieneeconduta.pdf](http://www.bvsm.icict.fiocruz.br/normastecnicas/higieneeconduta.pdf)>Acesso em: 10/10/2008.

HILLEL, O. O perigo da extinção da biodiversidade. **Qualidade em alimentação nutrição**, ano 8, n.30, p.6-9, 2008.

HINRICHSEN,S.L. **Biossegurança e Controle de Infecções – Risco Sanitário Hospitalar**. Rio de Janeiro: Medsi, 2004:153-157. cap.26.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre. Ed. Artmed, 611p, 2005.

JUNGMANN,M. **Agência Brasil: Ministério da Saúde lança campanha para incentivar parto normal**, 2008. Disponível em: <http://www.agencia.brasil.gov.br/noticias/2008/05/06/materia.2008-05-06.3594877018/view>. Acessado em: 01/09/2009.

LAMOUNIER, J.A.; VIEIRA, G.O.; GOUVEIA, L.C. Composição do leite humano – fatores nutricionais. *In*: REGO, J.D. **Aleitamento materno**. Rio de Janeiro: Atheneu; 2000.

LEI nº 11445 de 05 de janeiro de 2007. Estabelece as diretrizes nacionais para o saneamento básico e para a política federal para o saneamento básico. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 jan. 2007.

MAIA, P.R.S. et al. Rede Nacional de Bancos de Leite Humano: gênese e evolução. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 6, n. 3, p. 285-292, jul/set. 2006.

MATTA APRILE, M. da. **Banco de leite humano: sinopse de Pediatria** (periódico eletrônico) 2001; 7(3). Disponível em: http://www.cibersaude.com.br/revistas.asp?fase=r003id_matéria=1648. Acessado em: 01/09/2009.

MESQUITA, A.S. **Avaliação da contaminação do leite materno por pesticidas organoclorados persistentes em mulheres doadoras do Banco de Leite do Instituto Fernandes Figueira**, RJ. 2001. 97p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Saúde), v.1, Rio de Janeiro: Ensp/Fiocruz, 2001.

MOULIN, Z.S. *et al.* Contaminação bacteriana do leite humano coletado por expressão manual e estocado à temperatura ambiente. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 74, n. 5, p. 376-82, set.-out.1998.

MORRIS K. “Silent emergency” of poor water and sanitation. **The Lancet**, v. 363, n. 9413, p. 954, 2004.

MUNIZ, I.S. *et al.* Caracterização epidemiológica e sanitária em uma área de macrodrenagem da bacia do Rio Uma, Belém do Pará (Brasil). **Caderno de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v.15, p. 4 p. 483-500, 2007.

NOVAK, F.R. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em leite humano ordenhado**. 1999. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 102p. 1999.

NOVAK, F.R.; ALMEIDA, J.A.G. DE. *et al.* Resistência antimicrobiana de coliformes isolados de leite humano ordenhado. **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.17, n.3, p. 713-717, mai-jun. 2001.

NOVAK, F.R.; ALMEIDA, J.A.G. DE.; Teste alternativo para detecção de coliformes em leite humano. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v.78, n.3, p.193-196, 2002.

NOVAK, F.R.; CORDEIRO, D.M.B. Correlação entre população de microrganismos mesófilos aeróbios e acidez Dornic no leite humano ordenhado. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v.83, n.1, jan./fev. 2007.

NOVAK, F.R. *et al.* Análise sensorial do leite humano ordenhado e sua carga microbiana. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v. 84, n. 2, p. 181-184, 2008.

OLIVEIRA, M.I.C. *et al.* **Manual de capacitação de multiplicadores. Iniciativa unidade básica amiga da amamentação**. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, 2006.

OPS/OMS. **Evidências científicas dos dez passos para o sucesso no aleitamento materno**. Tradução: Maria Cristina Gomes do Monte. WHO/CHD/98.9. Brasília, 2001.

ORTOLANI, F.P.B. *et al.* Unidades de Alimentação e Nutrição, Dietas Enterais e Lactário. In: FERNANDES, A.T.; FERNANDES, M.O.V.; RIBEIRO FILHO, N. **Infecção Hospitalar e suas interfaces na área da Saúde**, vol. 2. São Paulo: Atheneu, 2000.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Desempenho em Equipes de Saúde – Manual**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2001.

PEREIRA, L.T.P. *et al.* Avaliação dos indicadores de qualidade do Leite pasteurizado tipo c comercializado em Ponta Grossa, Paraná. **Revista Higiene Alimentar**, v.20, n.17, dez. 2006.

PÉRET FILHO, L.A. **Terapia nutricional nas doenças do Aparelho digestivo na infância**. 2 ed. Rio de Janeiro: editora Medsi, 2003.

PHILIPPI JR., A.; SILVEIRA, V.F. Saneamento Ambiental e Ecologia Aplicada, In: PHILIPPI JR., A.; ROMÉRO, M.A.; BRUNA, G.C. **Curso de Gestão Ambiental**. São Paulo: Manole, 2004. p. 22-24.

PONTES, M.R.; IVASAKI, Y.; OLIVEIRA, Y.S. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do leite humano pasteurizado distribuído pelo banco de leite de um hospital público do Distrito Federal, **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.107, p.43-49.abr. 2003.

PRAXEDES, P.C. **Aspectos da qualidade higiênico-sanitária de alimentos consumidos e comercializados na comunidade São Remo, São Paulo, Capital. 2003.** 114p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e aplicada ao controle das Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2003.

PRIETSH, S.O.M. *et al.* Doença aguda das vias aéreas inferiores em menores de cinco anos: influência do ambiente doméstico e do tabagismo materno. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.78, n.5, p.415-422, 2002.

PRIÜSS, A. *et al.* Estimating the burden of disease from water, sanitation, and hygiene at a global level. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 5, p. 537-542, 2002.

RICHARDS, N. S. P. S. Segurança Alimentar: como prevenir contaminações na indústria. **Revista Food Ingredients**, n. 18, p.16-30, mai/jun. 2002.

RIOS, L. *et al.* Prevalência de Parasitos Intestinais e Aspectos Socioambientais em Comunidade Indígena no Distrito de Iauaretê, Município de São Gabriel da Cachoeira (AM), Brasil. **Saúde e Sociedade de São Paulo**, v.16, n.2, p.76-86, 2007.

RODRIGUES, K.L. *et al.* Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas, RS. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 447-452, 2003.

RODRIGUES, M.A.M. *et al.* Determinação da resistência do leite humano ao alizarol. **Revista Higiene Alimentar**. v. 18, n. , p. 78-80, nov/dez. 2004.

RONA, M.S. **Influência do tempo e da temperatura de estocagem na qualidade do leite humano ordenhado.** 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2004.

RONA, M.S.S. *et al.* Efeito do tempo e da temperatura de estocagem e nas determinações de acidez, cálcio, proteínas e lipídeos de leite de doadoras de bancos de leite humano. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v.8, n.3, jul./set. 2008.

ROZOLEN, C.D.; GOULART, A.L.; KOPELMAN, B.L. Is breast milk collected at home suitable for raw consumption by neonates in Brazilian public neonatal intensive care units? **Journal of Human Lactation**, v. 22, n. 4, p.418-25. nov. 2006.

SACRAMENTO, A.D.L.; CARVALHO, M.; MOREIRA, M.E.L. Avaliação do conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascidos prematuros nas maternidades do

município do Rio de Janeiro. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, Mirandópolis, v.22, n. 1, p. 31-36, jan./mar. 2004.

SANSANA, C.D.; BORTOLOZO, E.Q. Segurança alimentar domiciliar: conservação da carne mediante a aplicação do frio. **VI Semana de Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil** ISSN: 1981-366X / v. 02, n. 39, 2008.

SANTOS, E.A. Controle de qualidade em Banco de Leite Humano. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.133, jul. 2005.

SANTOS, D.T. *et al.* Perfil de doadoras de leite do banco de leite humano do hospital universitário de Londrina-PR. **Revista Estação Londrina**, v.4, n.6, p.23-29, dez.. 2005.

SCARSO, I.S. *et al.* Análise físico-química e bacteriológica do leite cru e pasteurizado do Banco de Leite de Sorocaba, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 142, p. 85-9, 2006.

SCARSO, I.S. **Estudo dos fatores que condicionam a acidez elevada em leite humano: aspectos microbiológicos e nutricionais.** 2008. 83p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba/SP, 2008.

SERAFINI, A.B. *et al.* Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.6, p.775-779, dez. 2003.

SILVA JR, E. A.; (APPC) Análise de Perigo e controle dos pontos críticos. In_ **Manual de controle higiênico-sanitário em alimento**; 4 Ed. , São Paulo, p. 49, 85, 86, 121-123, 193, 363, 364, 397. 2007.

SILVA, W.G. **Normas Técnicas para Banco de Leite Humano: Uma Proposta para Subsidiar a Construção para Boas Práticas.** Rio Janeiro, 2004. Tese (Doutorado) – IFF/FIOCRUZ. 2004.

SILVA, P.D.L. **Avaliação, identificação e atividade enzimática de bactérias psicrófilas presentes no leite cru refrigerado.** 2005. 91p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. Natal/RN, 2005.

SILVA VG, ALMEIDA JAG. Curva de crescimento bacteriano em leite humano ordenhado x acidez Dornic. **I Congresso Paulista de Bancos de Leite**; 2001. Dez 1-5; Ribeirão Preto. www.bvsam.cict.fiocruz.br/evcientif/1cpblh/1cpblh.htm. Acesso: 02/10/2008.

SOARES, S.R.A.; BERNARDES, R.S., CORDEIRO NETTO, O.M. Relações entre saneamento, saúde pública e meio ambiente: elementos para formulação de um modelo de planejamento em saneamento. **Caderno de Saúde Pública**, v.18, n. 6, p.1713-24, 2002.

SOUZA, L.H.L. A manipulação inadequada dos alimentos: fator de contaminação. **Revista Higiene Alimentar**, v.20, n.146, nov. 2006.

SOUZA, L.V. **Análise sanitária da água de poços domiciliares em um bairro rural do município de Pindamonhangaba, estado de São Paulo**. 2006. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade de Taubaté, Taubaté, 2006.

TAMANINI, R. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007.

TEDESCO, P.R. *et al.* Fatores determinantes para as expectativas de primigestas acerca da via de parto. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.26, p. 791-798, 2004.

UPDEGROVE, K. Human Milk Banking in the United States. **Newborn and Infant Nursing Reviews**, v. 5, n. 1, p. 27–33, marc. 2005.

VIEIRA, A.A.; MOREIRA, A.D.R.; PIMENTA, H.P.; LUCENA, S.L. Análise do conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso ao nascimento. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.80, n.6, Porto Alegre nov./dez. 2004.

APÊNDICE A

Tabela 3: Distribuição das 27 doadoras cadastradas no BLH em Taubaté, SP, segundo: escolaridade, ocupação, renda familiar, n° de gestações, n° de filhos, pré-natal e tipo de parto

Variável		N°	Frequência (%)
Escolaridade:	Ens. Fundamental	9	33,33
	Ens. Médio	10	37
	Superior	8	29,62
Ocupação:	Estudante	2	7,41
	Do lar	12	44,44
	Trabalha fora	13	48,14
Renda familiar:	2 salários mínimos	4	14,81
	3 salários mínimos	8	29,62
	4 salários mínimos	8	29,62
	5 salários mínimos	2	7,41
	+ 5 sal. mínimos	5	18,51
N° gestações:	01 gestação	13	48,14
	02 gestações	9	33,33
	03 gestações	4	14,81
	04 gestações	1	3,7
N° de filhos:	01 filho	15	55,55
	02 filhos	8	29,62
	03 filhos	4	14,81
Pré-natal:	SUS	12	44,44
	Particular	15	55,55
Tipo de parto:	Normal	11	40,74
	Cesária	16	59,25

APÊNDICE B

Tabela 4: Distribuição das 27 doadoras cadastradas no BLH em Taubaté, SP, segundo: higiene das mãos antes da ordenha, o uso de touca e máscara antes da ordenha, frasco usado para armazenamento do LHOC, local de armazenamento, se guarda o LHOC junto a outros alimentos, forma de ordenha e uso de concha para seios

Variável	N°	Frequência (%)
Higiene das mãos antes ordenha	Sim:	25 92,59
	Não:	2 7,41
Uso de touca durante ordenha	Sim:	13 48,14
	Não:	14 51,85
Uso de máscara durante ordenha	Sim:	3 11,11
	Não:	24 88,88
Frasco usado para armazenar o LO	Frasco do BL:	18 66,66
	Frasco do BL e frasco próprio:	9 33,33
Armazenamento do LO	Geladeira:	5 18,51
	Congelador:	10 37
	Freezer:	12 44,44
Armazenamento do LO com outros alimentos	Sim:	16 59,25
	Não:	11 40,74
Forma de ordenha	Manual:	14 51,85
	Bomba:	17 62,16
	Ambos:	11 40,74
	Não faz ordenha:	7 25,92
Uso da concha para seios	Sim:	26 96,29
	Não:	1 3,7
Doam o leite da concha	Sim:	26 96,29
	Não:	1 3,7

APÊNDICE C

Tabela 5: Distribuição das 27 doadoras segundo: cor, religião, estado natal, casa em que mora, n°. de moradores, cômodos da casa, banheiro, material da casa, piso e forro da casa

Variável	N°	Frequência (%)	
Cor da pele	Branca:	23	85,18
	Mulata:	2	7,41
	Negra:	2	7,41
Religião:	Católica:	16	59,25
	Evangélica:	5	18,51
	Outra:	2	7,41
	Nenhuma:	4	7,41
Estado natal	SP:	20	74,07
	Outro:	7	25,92
Casa em que moram	Própria:	10	37
	Alugada:	11	40,74
	Financiada:	3	11,11
	Cedida:	3	11,11
N° de moradores	03 moradores:		59
	04 moradores:		25
	05 moradores:		11
	Mais de 05 moradores:		3
Cômodos da casa	02 cômodos:	1	3,7
	03 cômodos:	3	11,11
	04 cômodos:	13	48,14
	05 cômodos:	6	22,22
	Mais de 05:	4	14,81
Banheiro	Dentro de casa:	27	100
	Dentro e fora :	10	37
Material da casa	Alvenaria:	26	96,29
	Madeira:	1	3,7
Piso da casa	Frio:	18	66,66
	Cimentado:	9	33,33
Forro da casa	Laje:	22	81,48
	Madeira:	4	14,81
	Sem forro:	1	3,7

APÊNDICE D

Tabela 6: Distribuição das 27 doadoras cadastradas no BLH em Taubaté, SP, segundo: água de consumo, água corrente na cozinha, sistema de esgoto, pavimentação de ruas e calçadas, coleta de lixo, animais, diarreia nos últimos 6 meses

Variável		Nº	Frequência (%)
Água de consumo	Torneira:	27	100
Água corrente	Cozinha:	27	100
	Banheiro:	27	100
Sistema de esgoto municipal	Sim:	27	100
Rua pavimentada	Sim:	27	100
Calçada Pavimentada	Sim:	27	100
Lixo	Coleta pública:	27	100
Animais	Gato:	5	18,51
	Cachorro:	9	33,33
	Gato+cachorro:	1	3,7
	Outros:	2	7,41
	Não possui:	10	37
Diarreia nos últimos 6 meses	Sim:	10	37
	Não:	17	62,16

APÊNDICE E

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esta pesquisa está sendo realizada pelo Sra. Sandra Cristina Mitsue aluna do Mestrado em Ciências Ambientais do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade de Taubaté (PPGCA), como dissertação de mestrado.

Seguindo os preceitos éticos, informamos que sua participação será absolutamente sigilosa, não constando seu nome ou qualquer outro dado que possa identificá-la no manuscrito final da monografia ou em qualquer publicação posterior sobre esta pesquisa.

Pela natureza da pesquisa, sua participação não acarretará em quaisquer danos para sua pessoa. A seguir, damos informações gerais sobre esta pesquisa, reafirmando que qualquer outra informação que V.S. desejar poderá ser obtida junto a aluna pesquisadora ou pelo professor orientador.

Tema da Pesquisa: Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um banco de leite humano do Vale do Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado.

Pesquisadora: Sandra Cristina Mitsue

Telefone (12) 91564072

Universidade de Taubaté – Mestrado em Ciências Ambientais E-mail: sandramitsue1@yahoo.com.br.

Orientadora: **Profa. Dra. Mariko Ueno**

O principal objetivo desta pesquisa é levantar dados referentes à qualidade microbiológica do leite doado, as condições sócio-econômicas e ambientais em que vivem as doadoras e as práticas higiênico-sanitárias durante a coleta e conservação do leite.

Ao concordar em participar da pesquisa você terá que responder a um questionário pré-formulado sobre as suas condições sócio-ambientais e práticas higiênico-sanitárias durante a coleta e conservação do leite.

A pesquisa consiste de análises microbiológicas e do leite doado e de um questionário a ser respondido pelas doadoras. Os dados e informações coletados servirão para traçar um perfil das doadoras pertencentes ao quadro do Banco de Leite de Taubaté e da qualidade do leite humano doado.

Após a conclusão da pesquisa, a dissertação contendo todos os dados e conclusões, estará à disposição para consulta na Biblioteca da Universidade de Taubaté.

V.Sa. terá a total liberdade para recusar sua participação, assim como solicitar a exclusão de seus dados, retirando seu consentimento sem qualquer penalização ou prejuízo.

Agradecemos sua participação, enfatizando que a mesma em muito contribui para a construção de um conhecimento atual na área.

Pesquisadora: Sandra Cristina Mitsue

Tendo ciência das informações contidas neste Termo de Consentimento, eu

_____, portadora do RG nº _____
_____, autorizo a utilização, nesta pesquisa, dos dados por mim fornecidos.

_____, ____ de _____ de _____

Assinatura da doadora: _____

APÊNDICE F

QUESTIONÁRIO PARA AS DOADORAS

1. Escolaridade: analfabeta () ensino fundamental () ensino médio () superior ()
2. Ocupação: trabalha fora () do lar () estudante ()
3. Renda familiar (considere a soma dos salários das pessoas que moram com você):
 menos de 1 salário () 1 salário () 2 salários () 3 salários ()
 4 salários () 5 salários () mais de 5 salários ()
4. Número de gestações: 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () mais de 5 ()
5. Número de filhos: 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () mais de 5 ()
 - amamentou aos outros filhos? sim () não ()
 - foi doadora de leite anteriormente? sim () não ()
6. Fez pré-natal? () SUS () particular () ambos () não fez
 - o parto foi: () natural () cesariana
7. Você lava as mãos com água e sabão antes da ordenha? sim () não ()
8. Você usa touca para prender os cabelos durante a ordenha? sim () não ()
9. Você usa máscara no rosto durante a ordenha? sim () não ()
10. Você armazena o leite ordenhado em:
 () frasco próprio () frasco oferecido pelo banco de leite () ambos
 ▪ Se armazena em frasco próprio, você:
 - Usa frasco de vidro com tampa de plástico? sim () não ()
 - Ferve o frasco por 15 minutos antes do uso? sim () não ()
 - Ferve a tampa do frasco por 15 minutos antes do uso? sim () não ()
11. Você guarda os frascos com o leite ordenhado em:
 () geladeira : em que temperatura?.....
 () congelador : em que temperatura?.....
 () freezer : em que temperatura?.....
12. Na geladeira, congelador ou freezer você guarda o frasco com o leite ordenhado junto com outros alimentos? sim () não ()
13. Você retira o leite somente por ordenha manual? sim () não ()
 - utiliza também a bomba tira leite? sim () não ()
14. Você utiliza concha para seios? sim () não ()
 ▪ Se a resposta for sim:
 - você aproveita o leite que fica na concha? sim () não ()
 - você higieniza a concha com:
 água corrente () água corrente + detergente ()
15. Defina sua cor de pele: () branca () negra () mulata () outra

16. Sua religião é: () católica () evangélica () outra () não segue nenhuma religião
17. Você nasceu no Estado de São Paulo? sim () não ()
18. Casa em que mora: própria () alugada () cedida () financiada () outros ()
19. Número de moradores: 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () mais de 5 ()
20. Cômodos da casa: 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () mais de 5 ()
21. Banheiro: dentro da casa () fora da casa () ambos () não tem ()
22. Material da casa: alvenaria () madeira () ambos () outros ()
23. Piso da casa: chão () cimentado () frio () madeira () outros ()
24. Forro da casa: não tem () madeira () laje () outros ()
25. Água de consumo: torneira () poço () mina () outros ()
26. Água corrente na cozinha: sim () não ()
27. Água corrente no banheiro: sim () não ()
28. Sistema de esgoto municipal:
- fossa séptica? sim () não ()
sim () não ()
29. Rua é pavimentada: sim () não ()
30. Calçada é pavimentada: sim () não ()
31. Lixo: coleta pública () queimado () enterrado () terreno baldio () outros ()
32. Possui: gato () cachorro () porco () galinha () cavalo () outros ()
33. Nos últimos seis meses houve casos de diarreia na residência? sim () não ()
▪ Se sim:
- somente nos adultos () somente nas crianças () ambos ()