

**INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA  
(IMIP)**

**FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE - FPS**

**Microbiológico do leite humano de doadoras internas e domiciliares de um Banco  
de Leite Humano**

Artigo apresentado no Congresso Científico do IMIP como um dos requisitos para finalização do programa de iniciação científica e trabalho de conclusão de curso da graduação em Medicina da FPS.

**Estudante PIBIC:** Jéssica Albuquerque Marques Silva

**Alunos colaboradores:** Camilla Tavares e Santos

**Orientadora:** Maria de Fátima Costa Caminha

**Co-orientadora:** Vilneide Maria Santos Braga Diégues Serva

Recife, 2013

**Microbiológico do leite humano de doadoras internas e domiciliares de um Banco de Leite Humano**

**Microbiological of human milk donated from internal and domiciliary human milk donors of a human milk bank**

Jéssica Albuquerque Marques Silva<sup>1</sup>, Camilla Tavares e Santos<sup>2</sup>, Vilneide Maria Santos Braga Diégues Serva<sup>3</sup>, Maria de Fátima Costa Caminha<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmica. Departamento de Medicina, Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), Recife, PE.

End.: Departamento de Medicina - Faculdade Pernambucana de Saúde.

Av. Jean Emile Favre, nº 422 – Imbiribeira, Recife – PE. CEP 51.200-060.

E-mail: jessicalbuquerque@gmail.com.

<sup>2</sup> Acadêmica. Departamento de Medicina, Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), Recife, PE.

End.: Departamento de Medicina - Faculdade Pernambucana de Saúde.

Av. Jean Emile Favre, nº 422 – Imbiribeira, Recife – PE. CEP 51.200-060.

Email: camillatavares\_00@hotmail.com.

<sup>3</sup> Mestre em Saúde Materno Infantil pela Universidade de Londres (1984).

End.: Banco de Leite Humano – Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira. Rua dos Coelhos, 300 - Boa Vista, Recife – PE. CEP 50070-550.

Email: vilneide@imip.org.br

<sup>4</sup> Doutora em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco (2009).

End.: Diretoria de Pesquisa – Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira. Rua dos Coelhos, 300 - Boa Vista, Recife – PE. CEP 50070-550.

E-mail: fatimacaminha@imip.org.br

## RESUMO:

**Cenário:** O aleitamento materno supre todas as necessidades para o recém-nascido crescer e se desenvolver sadio com repercussões em toda sua vida. Entretanto, há situações temporárias e/ou permanentes que impedem a amamentação. Nesses casos, o leite humano ordenhado pasteurizado (LHOP) de bancos de leite humano (BLH) é a melhor alternativa, todavia, esse leite pode ser considerado um meio de cultura para vários tipos de microrganismos. Por este motivo, o exame microbiológico é um parâmetro que qualifica o LHOP para o consumo. **Objetivo:** Descrever o microbiológico do leite humano de doadoras internas e domiciliares de um banco de leite humano em Recife, Brasil. **Métodos:** Estudo de corte transversal cuja coleta de dados foi realizada entre setembro de 2012 a fevereiro de 2013. A amostra foi consecutiva, composta de todos os frascos de leite humano ordenhado cru (LHOC) da primeira doação de doadoras internas e domiciliares destinados à doação para o BLH. O exame microbiológico foi realizado para detecção de coliformes totais. A coleta de dados foi obtida através dos resultados dos exames microbiológicos e dos registros das fichas das doadoras no BLH da Instituição estudada. Os dados foram analisados no Stata 12.1, sendo calculados os números absolutos e relativos. Utilizado o Teste Exato de Fisher, sendo considerado o nível de significância estatística  $< 5\%$ . O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira, protocolo nº 3132-12, em Reunião Ordinária de 25 de setembro de 2012. **Resultados:** No período da coleta foram registradas 268 doadoras (186 internas e 82 domiciliares) com um total de 716 frascos de LHOC doados. Desses, foram excluídos 14 devido a: sujeidade (1), controle de qualidade sensorial não conforme (1) e controle de qualidade físico-químico não conforme (12). Dos 702 frascos doados, a maioria do LHOP (99,72%) apresentou resultado do exame microbiológico negativo, os dois resultados positivos corresponderam a leite humano de doadoras internas. **Conclusão:** Quase 100% de todo leite humano doado no BLH da Instituição estudada apresentou resultado microbiológico adequado para o consumo.

**Palavras-chave:** Leite Humano, Bancos de Leite, Controle de Qualidade, Microbiologia.

## SUMMARY

**Scenario:** Breastfeeding meets all the needs for the child to grow and develop with sound effects throughout your life. However, there are temporary and / or permanent situations where breast feeding is not possible. In such cases, pasteurized human milk (PHM) of human milk banks (HMB) is the best alternative, however, this milk may be an optimal culture media for various microorganisms. Therefore, the microbiological analysis is the most important parameter that disqualifies PHM for consumption.

**Objective:** To describe the microbiological of human milk donated from internal and domiciliary human milk donors of a human milk bank in Recife, Brazil. **Methods:** It was a cross-sectional study which the data collection was carried out between September 2012 and February 2013. It was a consecutive data collection composed of all bottles of pasteurized human milk derived from the first human milk donation of internal and domiciliary donors to the HMB. Microbiological analysis was performed to detect total coliforms. Data collection was obtained through the results of the microbiological tests and records from the registration of donors in BLH of the Institution studied. Data were analyzed using Stata 12.1, and calculated the absolute and relative numbers. Used the Fisher exact test, being considered the level of statistical significance <5%. The project was approved by the Research Ethics Committee of the Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (CEP / IMIP) under the protocol number 3132-12, in a Ordinary Meeting of September 25, 2012. **Results:** During the data collection period 268 human milk donors were registered (186 internal and 82 domiciliary) with a total of 716 bottles of raw human milk donated. Of these, 14 were excluded due to: dirt (1), nonconforming sensorial quality control (1) and nonconforming physicochemical quality control (12). 702 human milk bottles were analyzed. 702 bottles of donated, the majority of PHM (99.72%) had negative microbiological test results, both positive results corresponded to internal donor human milk. **Conclusion:** Nearly 100% of all donated human milk in HMB Institution studied had microbiological results suitable for consumption.

**Key words:** Human Milk, Breast Milk Bank Quality Control, Microbiology.

## **Introdução**

O leite humano é um fluido complexo que contém lipídeos, proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, substâncias imunocompetentes, além de fatores tróficos ou moduladores de crescimento.<sup>1</sup> O leite humano também contém componentes com efeito antiinflamatório, como as vitaminas A, C e E, enzimas, prostaglandinas, inibidores enzimáticos e da protease.<sup>2</sup>

O leite humano é considerado a melhor forma de nutrição para recém-nascidos e lactentes. Suas propriedades facilitam a transição de vida intra para a extrauterina.<sup>3</sup> Este fluido dinâmico oferece um diversificado leque de substâncias bioativas para o desenvolvimento infantil durante períodos críticos de desenvolvimento do sistema imunológico, do intestino e do cérebro.<sup>2</sup> Bouwstra e cols concluíram inclusive que o aleitamento materno exclusivo por mais de 6 semanas possibilita um melhor desenvolvimento neurológico.<sup>4</sup>

Muitos recém-nascidos prematuros, entretanto, não dispõem de reflexos que o deixam aptos para amamentar direto no peito. Estes têm então que ser alimentados por outros métodos, como por exemplo: alimentação parenteral, alimentação trófica, sonda oro gástrica e translactação. Há ainda o fato de algumas mães não conseguirem produzir leite em quantidade suficiente para cobrir a cota de seus filhos prematuros e/ou doentes por alguns dias ou têm contra indicação transitória ou permanente para amamentar. Estas são as principais razões da alimentação de RN prematuros e/ou doentes com leite humano ordenhado pasteurizado de bancos de leite humano (BLH), produto advindo de doações voluntárias de mulheres que têm produção excedente.<sup>5</sup>

O BLH é um serviço especializado vinculado a um hospital de atenção materna e/ou infantil, sendo responsável por ações de promoção, proteção e apoio ao aleitamento

materno e execução de atividades de coleta da produção láctea da nutriz, seleção, classificação, processamento, controle de qualidade e distribuição.<sup>6</sup>

A Rede Brasileira de BLH (REDEBLH) já conta com 208 unidades e 109 Postos de Coleta, sendo dois os fundamentos que determinam sua política de atuação, prática institucional com compromisso e responsabilidade social e exercício de cidadania, que ocorre através das doações voluntárias de leite humano ordenhado que é distribuído, após rigoroso processo de controle de qualidade, para bebês prematuros e/ou doentes internados em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN). Benefícios econômicos também têm ocorrido na medida em que se estima diminuição na aquisição de fórmula infantil antes necessário para alimentar estes recém-nascidos impedidos, temporariamente, de se alimentarem ao seio materno.<sup>6,7</sup>

Assim, o BLH responde tecnicamente pela qualidade do leite humano distribuído, realizando a coleta, seleção, classificação, pasteurização e controle microbiológico do produto.<sup>6</sup> O leite ordenhado e doado para Bancos de Leite Humano, entretanto, pode ser ótimo meio de cultura para vários tipos de microrganismos.<sup>6,8</sup> Daí a necessidade de um rigoroso controle microbiológico.<sup>6</sup>

O controle de qualidade microbiológico do leite humano ordenhado praticado pela REDEBLH segue a lógica preconizada para alimentos, que institui a utilização de microrganismos indicadores de qualidade sanitária. Nesse contexto, o grupo coliforme tem ocupado lugar de destaque, por ser de cultivo simples, economicamente viável e seguro, minimizando a possibilidade de resultados falso-negativos.<sup>6,7</sup>

Dessa forma, esse estudo objetivou descrever o resultado microbiológico do leite humano de doadoras internas e domiciliares de um banco de leite humano em Recife, Brasil.

## **Método**

Foi realizado um estudo de corte transversal, baseado em registros do Banco de Leite Humano do IMIP. A coleta de dados ocorreu no período de setembro de 2012 a fevereiro de 2013.

A amostra foi consecutiva, composta de todos os frascos de leite humano ordenhado cru (LHOC) da primeira doação de doadoras internas e domiciliares destinados à doação para o BLH. O exame microbiológico foi desenvolvido a partir do procedimento clássico para detecção de coliformes totais, o qual consiste na inoculação de alíquotas LHOP no caldo bile verde brilhante. Após a inoculação e incubação, a presença de gás no interior do tubo de Durham caracteriza resultado positivo, que será confirmado com nova inoculação e leitura. Desta forma, os dados foram obtidos através dos resultados dos exames microbiológicos e dos registros das fichas das doadoras internas e domiciliares no BLH da Instituição estudada (variáveis socioeconômicas e demográficas maternas e biológicas da criança; local de coleta e descarte). Os dados foram digitados no Excel e analisados no Stata 12.1, onde foram calculadas as frequências. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (CEP/IMIP), protocolo no. 3132-12, em Reunião Ordinária de 25 de setembro de 2012.

## **Resultados**

No período da coleta foram registradas 268 doadoras (186 internas e 82 domiciliares) com um total de 716 frascos de LHOC doados. Desses, foram excluídos 14 devido a: sujidade (1), controle de qualidade sensorial não conforme (1) e controle de qualidade físico-químico não conforme (12), resultando em uma amostra de 702

frascos, destes, a maioria apresentou resultado negativo (99,7%) e aqueles que tiveram resultado positivo eram provenientes de doadoras internas (0,3%).

Das doadoras estudadas, a maioria tinha idade entre 20 e 35 anos (72,4%), e haviam cursado o Ensino Fundamental/Médio (56,3%), estava ativa no mercado de trabalho (62,0%), havia realizado o pré-natal em instituição pública (57,2%), eram doadoras internas (69,4%) e com idade gestacional maior ou igual à 37 semanas (62,8%). (Tabela 1).

**Tabela 1.** Distribuição de frequência das características sociodemográficas e biológicas das doadoras atendidas no Banco de Leite Humano do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) durante setembro/2012 e fevereiro/2013.

<b>Variáveis</b>	<b>n = 268*</b>	<b>%</b>
<b>Idade materna</b>		
< 20 anos	42	16,5
20 a 35 anos	184	72,4
≥ 36 anos	28	11,1
<b>Escolaridade</b>		
Fundamental	35	19,9
Médio	64	36,4
Superior	77	46,7
<b>Ocupação</b>		
Sim	142	62,0
Não	87	38,0
<b>Pré-Natal</b>		
Público	135	57,2
Privado	101	42,8
<b>Local da coleta</b>		
IMIP	186	69,4
Domiciliar	82	30,6
<b>Idade gestacional</b>		
< 37 semanas	97	37,2
≥ 37 semanas	164	62,8

\* A amostra variou devido a ausência de informações.

A escolaridade mostrou-se estatisticamente significativa ( $p < 0,000$ ) quando comparadas as doadoras domiciliares e internas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Comparação da escolaridade entre doadoras internas e domiciliares atendidas no Banco de Leite Humano do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) durante setembro/2012 e fevereiro/2013.

Escolaridade	Doadoras (n = 268)*		Valor p**
	Internas (n = 98)	Domiciliares (n = 78)	
	n (%)	n (%)	
<b>Escolaridade</b>			0,000
Fundamental	34 (97,1%)	1 (2,9%)	
Médio	51 (79,7%)	13 (20,3%)	
Superior	13 (16,9%)	64 (83,1%)	

\* A amostra variou devido a ausência de informações. \*\* Teste Exato de Fisher.

Quanto as características biológicas dos bebês, a maioria tinha idade menor ou igual a 6 meses (92,9%) e peso maior ou igual à 2500g (64,9%). (Tabela 3).

**Tabela 3.** Distribuição de frequência das características biológicas dos bebês das doadoras atendidas no Banco de Leite Humano do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) durante setembro/2012 e fevereiro/2013.

Variáveis	n = 268*	%
<b>Idade</b>		
≤ 6 meses	248	92,9
> 6 meses	19	7,1
<b>Peso ao nascer</b>		
< 2500 g	94	35,1
≥ 2500 g	174	64,9

\* A amostra variou devido a ausência de informação.

## Discussão

O presente estudo mostrou uma frequência de apenas 0,3% de positividade no microbiológico de LHOP, valor abaixo do considerado ideal pela REDEBLH, que recomenda um número inferior a 2% <sup>9</sup>. Isto demonstra o seguimento das diretrizes da pasteurização realizada no Banco de Leite da instituição estudada, sendo, então, beneficiadas as crianças por ele atendidas.

O exame microbiológico é importante porque identifica o crescimento de bactérias capazes de produzir acidificação e fermentação do leite, o que pode levar a diminuição dos componentes nutricionais e imunológicos, devido à utilização de nutrientes do leite pela microbiota contaminante e a diminuição dos fatores de defesa. As causas de elevação da quantidade destes microrganismos no leite humano podem estar relacionadas às técnicas inadequadas de coleta, às condições de higiene da doadora e dos utensílios e à manutenção do leite fora da cadeia de frio. <sup>8</sup>

Novak *et al.* em um estudo realizado no Banco de Leite Humano do Instituto Fernandes Figueira (BLH-IFF), com 837 amostras de LHOC relataram a presença de 71 frascos (8,48%) contaminados com coliformes totais. <sup>10</sup> No estudo realizado por Castro *et al.*, em um Banco de Leite no município de Piracicaba (SP), a partir da avaliação de 60 amostras de LHOC, foram encontradas em 50% a presença de *Escherichia coli*, e em 75%, coliformes totais, sugerindo falhas na manipulação do produto pelas doadoras. <sup>11</sup> Estudo em BLH de Goiânia (GO), realizou análises microbiológicas de 194 amostras de LHOC, e 144 de LHOP, onde das amostras de LHOC, 133 (68,7%) estavam contaminadas e de LHOP, 73 (50,7%). Os autores do estudo de Goiânia, sugerem haver necessidade de obtenção de um leite com carga microbiana inicial mais baixa para que não haja tanto descarte de leite decorrente da contaminação por coliformes totais. <sup>12</sup> Por

outro lado, a REDEBELH não recomenda esta avaliação inicial, pois se sabe que a pasteurização é capaz de inativar 99% de bactérias<sup>9</sup>.

Cada frasco que chega aos bancos de leite é obtido de doadoras em condições higiênico-sanitárias que podem variar até mesmo de uma coleta para outra, tornando a flora de contaminação secundária diversificada entre os frascos doados pela mesma doadora.<sup>13</sup> Portanto, a orientação sobre a ordenha do leite humano por parte do profissional de saúde, principalmente para as doadoras domiciliares, e, supervisão das doadoras internas durante a coleta, é indispensável para garantir a ausência de bactérias no leite. No estudo atual não foi estudada a orientação fornecida pelo BLH de onde as amostras foram avaliadas, mas, de acordo com o resultado obtido, pode-se inferir que são respeitadas as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária contidas no Manual de Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos de BLH.<sup>6</sup>

Foram descritas características socioeconômicas, demográficas e biológicas das mulheres doadoras e constatou-se que as doadoras domiciliares apresentaram nível de escolaridade superior às doadoras internas. É possível que este dado tenha contribuído para o resultado de 100% de negatividade dos exames microbiológicos das doadoras domiciliares, visto que a literatura cita a contribuição da escolaridade na absorção de informações por meio das orientações.<sup>14</sup> Entretanto, nota-se ausência de maiores estudos relacionando esta variável com o resultado do exame microbiológico.

O presente estudo contribui para corroborar com o trabalho oferecido pelos Bancos de Leite Humanos BLH no que se refere ao controle de qualidade microbiológico do LHOP, visto que tanto o leite humano doado por doadoras domiciliares quanto por doadoras internas apresentou resultado microbiológico adequado para o consumo com um percentual mínimo de positividade.

## Referências

1. Costa AGV, Sabarense CM. Modulação e Composição de Ácidos Graxos do Leite Humano. Rev Nutr. 2010; 23(3):445-57.
2. Dantas MBM, Serva VMSBD. Pediatria Ambulatorial, 1ª edição, 2008. A Primeira Prevenção: Aleitamento Materno, p. 55-65.
3. Carol LW. Human Milk and Lactation. Professor of Pediatrics, Medical University of South Carolina. 2010 [acesso em: 29 jun. 2013]. Disponível em: [www.emedicine.medscape.com/article/1835675-overview](http://www.emedicine.medscape.com/article/1835675-overview).
4. Bouwstra H, Boersma ER, Boehm G, Dijck-Brouwer DA, Muskiet FA, Hadders-Algra M. Exclusive breastfeeding of healthy term infants for at least 6 weeks improves neurological conditions. J Nutri. 2003; 133 (12): 4243-5.
5. Serafini AB, André MCDPB, Rodrigues MAV, Kipnis A, Carvalho CO, Campos MRH, Monteiro EC, Martins F e Jubé TFN. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. Rev Saúde Pública 2003; 37(6): 775-9.
6. Brasil. Banco de Leite Humano: Funcionamento, Prevenção e Controle de Riscos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, Brasília, DF. 2008 [acesso em: 29 jun. 2013]. Disponível em: [www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/manual\\_180108.pdf](http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/manual_180108.pdf).
7. Centro Latino Americano de Tecnologia e Informação em Bancos de Leite CLATI/BLH. [acesso em: 29 jun. 2013]. Disponível em: [www.fiocruz.br/redeblh/media/Redelati.pdf](http://www.fiocruz.br/redeblh/media/Redelati.pdf).

8. Silva ER, Abdallah VOS, Oliveira AMM. Qualidade microbiológica do leite humano ordenhado no Domicílio: eficácia de uma ação educativa. Universidade Federal de Uberlândia. 4ª Semana do Servidor e 5ª Semana Acadêmica [acesso em 01 ago. 2013]. Disponível em: [www.ssl4799.websiteseuro.com/swge5/seg/cd2008/pdf/sa08-21093.pdf](http://www.ssl4799.websiteseuro.com/swge5/seg/cd2008/pdf/sa08-21093.pdf).
9. Silva DA. Ensaio de proficiência para bancos de leite humano: Formulação e avaliação de uma proposta para a rede Brasileira de bancos de leite humano [tese]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Fernandes Figueira; 2009.
10. Novak FR, Almeida JAG; Asensi MD; Moraes BA; Rodrigues DP. Resistência antimicrobiana de coliformes isolados de leite humano ordenhado. Cad. Saúde Pública vol.17 no. 3. 2001 [acesso em 01 ago. 2013]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2001000300026](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000300026).
11. Porto E; Sturion GL; Silveira NFA; Souza MC; Gallo CR. Avaliação da qualidade microbiológica de leite humano cru recebido em banco de leite humano. [Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 2006.
12. Álvaro BS, Maria CDPBA, Márcia AVR, André K, Cynthia OC, Maria RHC, Érica CM, Fábria MTFNJ. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. Rev Saúde Pública. 2003; 37(6):775-9.
13. Novak FR; Almeida JAG. Teste alternativo para detecção de coliformes em leite humano ordenhado. Jornal de Pediatria, Sociedade Brasileira de Pediatria. 2002; 78 (3):193-6.
14. Santos DT, Vannuchi MTO, Oliveira MMB, Dalmas JC. Perfil das doadoras de leite do banco de leite humano de um hospital universitário. Acta sci. 2009; 31(1): 15-21.