



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E

PARASITOLOGIA APLICADAS

**ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS
DE CONTROLE
EM DIETAS ENTERAIS MANIPULADAS EM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PÚBLICO DO
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Imunologia
e Parasitologia Aplicadas, como requisito
parcial à obtenção do título de Mestre.

CINARA KNYCHALA MUNIZ

UBERLÂNDIA - MG

JULHO DE 2005



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E

PARASITOLOGIA APLICADAS

**ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS
DE CONTROLE
EM DIETAS ENTERAIS MANIPULADAS EM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PÚBLICO DO
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Imunologia
e Parasitologia Aplicadas, como requisito
parcial à obtenção do título de Mestre.

CINARA KNYCHALA MUNIZ

Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (Orientador)

UBERLÂNDIA - MG

JULHO DE 2005



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E

PARASITOLOGIA APLICADAS

**ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS
DE CONTROLE
EM DIETAS ENTERAIS MANIPULADAS EM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PÚBLICO DO
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Imunologia
e Parasitologia Aplicadas, como requisito
parcial à obtenção do título de Mestre.

CINARA KNYCHALA MUNIZ

Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (Orientador)

Prof. Dra. Daise Aparecida Rossi (Co-orientadora)

UBERLÂNDIA - MG

JULHO DE 2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborado pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de
Catalogação e Classificação

M966a Muniz, Cinara Knychala, 1968-
Análise de perigos e pontos críticos de controle em dietas
enterais manipuladas no Hospital de Clínicas da Universidade
Federal de Uberlândia / Cinara Knychala Muniz. - Uberlândia,
2005.
47f. : il.
Orientador: Paulo Pinto Gontijo Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas.
Inclui bibliografia.
1. Alimentação enteral - Teses. 2. Nutrição enteral - Teses.
3. Infecção hospitalar - Teses. 4. Microbiologia - Teses. I.
Gontijo Filho, Paulo Pinto. II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas. III. Título.

032(043.3)

CDU: 613.2-

Dedico este trabalho ao meu esposo
Rogério, *companheiro e amigo, que*
esteve sempre ao meu lado, incentivando
e apoiando, de todas as formas e
incondicionalmente, e aos meus filhos
Vinícius e Isabella *que me enchem de*
alegria e força.

“Ninguém pode construir em teu lugar,
as pontes que precisarás passar,
para atravessar o rio da vida
- ninguém, exceto tu, só tu.

Existem, por certo, atalhos sem números,
e pontes, e semideuses
que se oferecerão
para levar-te além do rio;
mas isso te custaria a tua própria pessoa;
tu te hipotecarias e te perderias.
Existe no mundo um único caminho
por onde só tu podes passar.
Onde leva? Não perguntes, segue-o”.

Nietzsche

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar saúde, vida e por ter me rodeado de pessoas maravilhosas que de diferentes formas, foram os pilares que me sustentaram nesta jornada;

Aos meus pais, por terem me dado o exemplo de trabalho, luta e de vida;

Ao meu amigo e esposo Rogério, o principal responsável por eu ter cumprido esta jornada, porque com seu carinho e apoio eu sinto que posso ser tudo que eu quiser;

À minha família que torceu por mim e me forneceu apoio e cuidados redobrados com os meus filhos, para que eu tivesse tranquilidade para desenvolver meu trabalho;

A minha alma gêmea Ciça, que sempre esteve ao meu lado, mesmo quando distante;

Ao meu orientador Prof. Dr Paulo P. Gontijo Filho, que acreditou em mim e mesmo com tantas atividades sempre me disponibilizava seu tempo com generosidade;

À minha co-orientadora e amiga Daise, que me conduziu durante o desenvolvimento do projeto;

Ao Samuel, que como chefe abriu as portas do Serviço de Nutrição para o desenvolvimento da pesquisa e me forneceu condições de conciliar os horários de trabalho;

Aos colaboradores do Setor de Nutrição Enteral, pela disponibilidade em fornecer os dados necessários à pesquisa;

Aos técnicos de laboratório Francesca, Claudete e Ricardo, pela boa vontade e colaboração;

Ao Neto, Lucileide e Jorge que demonstraram sempre colaboração e amizade;

À Maria Cláudia Knychala pelo carinho e valioso auxílio com o inglês;

Às colegas de laboratório Ana Alice, Jupys e Fúlvia pela colaboração;

À Bia, Maria, Manso, Ruth, Lúcia, Márcia, Vitória, Christiane e companhia limitada, que torceram tanto por mim;

À Cida e Germano pelo apoio desprendimento e carinho.

Aos colegas de Trabalho e de estudo Vanessa, Cássia, Patrícia, Camila, Liandra, Luciana Carneiro; Daniela Nogueira, Lizandra, Karinne, Flávio e tantos outros que não me é possível listá-los, pela amizade, carinho e companheirismo.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	vii
Lista de Tabelas e Figuras.....	viii
Lista de Anexos.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	7
3.1 Protocolo do estudo.....	7
3.2 Pré APPCC.....	8
3.3 Implantação do sistema APPCC.....	9
3.4 Descrição das etapas de preparo das dietas enterais líquidas.....	11
3.5 Descrição das etapas de preparo das dietas enterais em pó.....	13
3.6 Fluxograma de preparo das dietas enterais líquidas.....	15
3.7 Fluxograma de preparo das dietas enterais em pó.....	16
3.8 Coleta amostras.....	17
3.8.1 Dietas.....	17
3.8.2 Água.....	17
3.8.3 Equipamentos e utensílios.....	18
3.9 Métodos laboratoriais.....	19
3.9.1 Processamento das amostras.....	19
3.9.2 Preparo das diluições.....	19
3.9.3 Protocolos de análise.....	19
3.9.3.1 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas	19
3.9.3.2 Número Mais Provável de coliformes totais e	
fecais.....	20
3.9.3.3 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.9.3.4 Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	21
3.9.3.5 Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>	21
3.9.3.6 Presença/ausência de <i>Salmonella</i> spp.....	22

3.9.3.7 Presença/ausência de <i>Listeria</i> spp.....	22
3.10 Avaliação da adequação das dietas.....	23
3.11 Análise de dados.....	24
3.11.1 Teste de Mann-Withinei.....	24
3.11.2 Teste do Qui-Quadrado.....	24
4. RESULTADOS.....	25
4.1 Análises – Pré APPCC.....	25
4.2 Análises – Pós APPCC.....	32
4.3 Dietas armazenadas sob refrigeração por 18 horas.....	37
4.4 Identificação dos pontos críticos de controle.....	37
5.DISSCUSSÃO.....	42
6. CONCLUSÕES	47
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
8. ANEXO I.....	55
9. ANEXO II.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA – American Public Health Association
APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
APT – Água Peptonada Estéril
BHI – Infusão Cérebro Coração
BP – Baird Parker
CCIH – Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
cm² – Centímetros quadrados
EC – *Escherichia Coli*
FDA - Food and Drug Administration
g – Grama
HACCP - Hazard Analysis Critical Control Point
HE – Entérico de Hectoen
IgA – Imunoglobulina A
LST – Lauril Sulfato Triptose
ML – Mililitros
MYP – Manitol-Gema de ovo-Polimixina
n – Número
NMP – Número Mais Provável
p – Probabilidade
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
SC – Selenito e Cistina
TBLEB – Buffered Listeria Enrichment Broth
TNE – Terapia de Nutrição Enteral
TSC – Triptose Sulfito Cicloserina
TT – Tetracionato
UFC – Unidade Formadora de Colônia
VB – Verde Brilhante
XLD – Xilose Lisina Desoxicolato

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Fluxograma de preparo das dietas líquidas.....	15
Fluxograma de preparo das dietas em pó.....	16
Figura 1: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de bactérias mesófilas (UFC mL ⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo.	27
Figura 2: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de coliformes totais (NMP mL ⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo.	28
Figura 3: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de coliformes fecais (NMP mL ⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo..	29
Figura 4: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> (CFU mL ⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo..	30
Figura 5: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de <i>Bacillus cereus</i> (CFU mL ⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo.....	31
Figura 6: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de bactérias mesófilas (UFC mL ⁻¹) por grupos de	33

trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo..

Figura 7: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de coliformes totais (NMP mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo.. 34

Figura 8: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de *Staphylococcus aureus* (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo.. 35

Figura 9: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de *Bacillus cereus* (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo.. 36

Tabela 1 - Análise Microbiológica de pontos críticos de controle pré APPCC. 38

Tabela 2 - Análise Microbiológica de pontos críticos de controle pós APPCC. 39

Tabela 3 - Colonização de mãos e narinas de manipuladores com *Staphylococcus aureus* pré e pós APPCC..... 40

Tabela 4 – Adequação das dietas enterais independente do grupo e tempo de estocagem, pré e pós APPCC de acordo com o padrão da ANVISA..... 41

LISTA DE ANEXOS

Anexo I -	46
Anexo II -	47

RESUMO

Apesar dos bons resultados obtidos na indústria de alimentos e em restaurantes institucionais, o sistema Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) não tem sido largamente aplicado para reduzir riscos de infecção hospitalar. O objetivo deste estudo foi investigar a qualidade microbiológica de dietas artesanais, em pó e líquidas prontas para o uso, antes e após a implementação do sistema APPCC em um hospital universitário brasileiro. Em 76 amostras de dietas enterais, foram investigados os seguintes microrganismos: bactérias mesófilas, coliformes totais e fecais, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp* e *Listeria*. Foram comparados os resultados obtidos em dois diferentes grupos de manipuladores de alimentos, que trabalhavam em dias alternados, e dietas armazenadas sob refrigeração em diferentes tempos, por até 18 hs após o preparo. Foram também pesquisados pontos críticos de controle como: liquidificadores, superfície de latas, água e mãos e narinas de manipuladores. Anterior à implementação do sistema APPCC a qualidade microbiológica das dietas artesanais e em pó estavam em torno de 50% de adequação em relação ao recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e após a implementação do sistema APPCC estes valores aumentaram para 57 % e 97 %, respectivamente. As dietas prontas para o uso mantiveram-se 100% adequadas nos dois momentos, antes e após a implementação do sistema APPCC. Liquidificadores usados no preparo de dietas enterais foram importante fonte de contaminação. Observou-se a importância da higiene pessoal principalmente em um dos grupos de trabalho antes da implementação do sistema APPCC. A contaminação de dietas enterais pode ser reduzida e dietas em pó podem ser disponibilizadas com a qualidade microbiológica similar à de dietas prontas para o uso se princípios do sistema APPCC são implementados.

ABSTRACT

In spite of the good results in food industry and institutional restaurants the Hazard Analysis Critical Control Point (APPCC) system has not been widely applied to the problems of hospital infection control. The aim of this study was to investigate the microbiological quality of blenderized (powder and artisanal) and ready-to-use feed Pré and Pós implementation of APPCC system in Brazilian teaching hospital. The presence of mesophilics, total and fecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella spp* and *Listeria* was researched in 76 samples of enteral feeds into two different Groups of foodhandlers (one Group worked in a day and other worked in the next day) and stored at 4°C for until 18 h, critical control points as blenders were also researched, surface of cans, water and foodhandlers nostril and handlers. Artisanal and powder feeds Pré the APPCC system was around 50% above the recommended, and Pós the APPCC system implementation these value increased to 57 % and 97% above the recommended respectively. The ready-to-use feeds conserved 100% adequacy in two moments, Pré and Pós APPCC. Blenders used in preparing of enteral feeds were found to be the important source of contamination. It was noticed the importance of personnel hygiene mainly in one of two Groups of workers Pré implementation of the APPCC system. Contamination of enteral feeds can be reduced and powder feeds can be available with microbiologic quality similarly to ready-to-use diets if principles of the APPCC system are implemented.

1. INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares estão associadas a taxas expressivas de morbi-mortalidade bem como de maiores custos assistenciais. Pittet e Wenzel (1995) verificaram que cerca de 7,14% dos pacientes internados nos E.U.A adquirem infecção desta natureza e aproximadamente 1% destes pacientes vão a óbito. Os custos são de aproximadamente 3,5 bilhões de dólares ao ano (VICENT, 2003). As taxas de infecções hospitalares diferem de um país para o outro, assim como de uma instituição para a outra, e dependem de vários fatores relacionados à clientela (estado imunológico, nível cultural e sócio econômico); características do hospital (geral, universitário, centro de referência, pequeno, médio ou grande porte), e sistema de controle de vigilância epidemiológica das infecções hospitalares (MACHADO, 2001).

No Brasil, há escassez de dados em função da heterogeneidade econômica macro-regional, ocorrendo discrepâncias entre hospitais com alta tecnologia e outros, onde faltam elementos básicos como medicamentos e curativos. O risco de se contrair infecção hospitalar nestes últimos é maior não só em função da falta de recursos financeiros e humanos, mas também pela alta incidência de doenças infecciosas comunitárias e de uma clientela predominantemente subnutrida (GARZON, 1993). Considerando apenas hospitais terciários localizados nas capitais, a frequência de infecções hospitalares é da ordem de 15% (PANNUTI; GRINBAUM, 1995; PRADE, 1995; WEY, 1995).

Segundo a RDC nº 63 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a nutrição enteral é um “alimento para fins especiais, com ingestão controlada de nutrientes, na forma isolada ou combinada, de composição definida ou estimada, especialmente formulada e elaborada para uso por sondas ou via oral, industrializado ou não, utilizada exclusiva ou parcialmente para substituir ou complementar a alimentação oral em pacientes desnutridos ou não, conforme suas necessidade nutricionais, em regime hospitalar, ambulatorial ou domiciliar, visando a síntese ou manutenção dos tecidos, órgãos ou sistemas” (BRASIL, 2000).

A Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral realizou no ano de 1996 o Inquérito Brasileiro de Avaliação Nutricional Hospitalar – IBRANUTRI. O estudo realizado em 4.000 pacientes internados na rede pública hospitalar de 12 estados brasileiros e do Distrito Federal verificou que a prevalência de desnutrição

hospitalar era de aproximadamente 50%, dos quais 12,6% são portadores de desnutrição grave (CORREIA *et al.* 1998).

Geralmente, os pacientes em uso de nutrição enteral são em sua maioria pacientes críticos e desnutridos, os quais possuem dificuldades em impedir agressão orgânica microbiana, seja por insuficiência da barreira intestinal, ou por imunodrepressão sistêmica. Nestes pacientes ocorre, perda substancial de massa intestinal, após curto período de redução na ingestão nutricional, seguida de atrofia de mucosa, permitindo maior permeabilidade intestinal e conseqüentemente, translocação bacteriana (WAITZBERG, 2001). Pacientes desnutridos são mais suscetíveis à infecções, atraso no processo de cicatrização, falência de múltiplos órgãos e período de hospitalização prolongado (LEANDRO, 1990). Deve-se considerar também que deficiências de IgA (Imunoglobulina A) podem alterar a composição da microbiota normal e, conseqüentemente, aumentar o risco de infecção. A secreção de IgA é influenciada pela nutrição e, indiretamente por todos os fatores que determinam a dieta do paciente (PEDRUZZI, 2002).

A mucosa do intestino delgado de indivíduos saudáveis é colonizada por uma microbiota normal, com contagens de aproximadamente 10^3 UFC mL⁻¹ no intestino delgado proximal podendo atingir até 10^8 UFC mL⁻¹ no intestino grosso (TRABULSI, 2000). O controle qualitativo e quantitativo dessa microbiota ocorre por diferentes mecanismos como peristaltismo, *turnover* celular da mucosa, presença de sais biliares, antagonismo com microrganismos exógenos e, ainda, pelo estímulo às células de defesa (BERG, 1996). Vários fatores que afetam o equilíbrio da microbiota intestinal podem permitir o desenvolvimento de superpopulação bacteriana e colonização por patógenos oportunistas. Entre estes fatores, destacam-se a exposição a antimicrobianos, antiácidos, bloqueadores de histamina, uso de difenoxilato, vagotomia, uso de imunossupressores e desnutrição grave, entre outros (FERREIRA, 2001; DUNCAN; EDBERG, 1995).

Na Terapia de Nutrição Enteral - TNE, a administração de dietas eventualmente contaminadas pode estar associada não somente a distúrbios gastro-intestinais, mas principalmente os pacientes imuno-comprometidos podem ser também acometidos por infecções mais graves como pneumonia e sepse (OLIVEIRA *et al.*, 2001; BEATTIE; ANDERTON, 1998; ANDERTON, 1993; LEVY *et al.*, 1989).

Apesar do trato gastrointestinal ser uma excelente opção para a alimentação do paciente, pode tornar-se importante via para a invasão de patógenos e estabelecimento de infecção hospitalar. O cuidado com detalhes, às vezes, aparentemente de menor importância, como o estabelecimento e manutenção da via de acesso apropriada, o preparo, a conservação e a administração da dieta, são responsáveis pelo sucesso da prevenção das complicações infecciosas, quando se utiliza a nutrição enteral (CORREIA *et al.*, 2005).

No último século a TNE tem se tornado um tratamento valioso tanto em ambiente hospitalar como domiciliar. Entretanto, não acontece sem complicações e a mais comum destas é a diarreia, que ocorre em mais de 25% dos pacientes em enfermaria geral e em 63% daqueles em unidade de terapia intensiva. A patogênese permanece desconhecida, embora vários fatores tenham sido implicados, incluindo dietas contaminadas, intolerância à lactose, antibioticoterapia, medicamentos osmoticamente ativos e coexistência de hipoalbuminemia (BOWLING, 1998).

Dietas enterais altamente contaminadas, contendo de 10^3 a 10^9 bacilos Gram negativos/mL, têm sido relacionadas como causa, não somente de diarreia (OKUMA *et al.*, 2000), mas também de sepsis, pneumonia e infecção do trato urinário (THURN, 1990). Além disso, consideráveis evidências indicam que a dieta enteral contaminada com bactérias pode ser causas de infecção nosocomial grave (ARIAS, 2003; NAVAJAS, 1992).

As dietas enterais se classificam em industrializadas, que são completas e disponibilizadas pela indústria nas formas líquidas e em pó; e artesanais que são elaboradas no próprio serviço de nutrição a partir de alimentos *in natura*, ou de módulos de nutrientes. Essas dietas comportam-se como excelentes meios de cultura e favorecem a multiplicação dos microrganismos devido à sua composição, pois são ricas macro e micro-nutrientes, possuem pH em torno de 7,0 e elevada atividade de água (WAITZBERG, 2001). Ainda no caso das dietas artesanais e industrializadas em pó, em virtude de uma maior manipulação durante o preparo, a contaminação pode atingir números expressivos e se tornar um risco para o paciente (CARVALHO, 1998).

Hunskins *et al.* (2004) enfatizam que melhorias nas condições de facilidades hospitalares, equipamentos, insumos, procedimentos e as práticas de cuidados com os pacientes, possuem um impacto no risco de infecção nosocomial em países de recursos limitados. Organismos internacionais como o Codex

Alimentarius (1993) e o guia elaborado por um grupo de nutrição enteral e parenteral da “*British Dietetic Association*” (ANDERTON, 1986) recomendam a utilização do sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), para garantir a segurança microbiológica de alimentos e reforçam a importância da monitorização regular das práticas e procedimentos envolvidos no fornecimento de nutrição enteral para pacientes.

Este é um sistema preventivo que envolve a análise das diferentes etapas de elaboração de determinado alimento iniciando desde a seleção e compra de ingredientes até atingir o consumidor final, sendo identificados os perigos associados com a manipulação do produto em cada estágio do processo. É então construído um fluxograma que resume o processo, permitindo identificar os pontos onde um controle maior deve ser estabelecido, estes pontos são considerados Pontos Críticos de Controle, ou seja, pontos onde procedimentos imediatos de controle podem ser exercidos para eliminar, prevenir ou reduzir perigos a níveis suportáveis. O próximo passo é o estabelecimento de critérios a serem seguidos e de ações corretivas a serem tomadas sempre que os critérios não forem atingidos, a monitorização periódica destes pontos críticos possibilitam a tomada de medidas preventivas apropriadas impedindo que o perigo atinja o consumidor final (ANDERTON, 1995).

Essa característica preventiva torna o sistema APPCC, ou como é conhecido internacionalmente HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*), especialmente importante quando se trata de nutrição enteral, visto que o resultado da análise microbiológica de dietas prontas é definido tardiamente, ou seja, quando as dietas já foram infundidas no paciente.

Alguns artigos descrevem os princípios do sistema APPCC como uma ferramenta que pode ser aplicada e sugerem a forma como podem ser adaptados para o controle de infecção hospitalar (ANDERTON, 1995; HUNTER, 1991).

A ANVISA, através da RDC 63 de 06/07/2000, determina que a manipulação da nutrição enteral deve ser realizada com técnica asséptica, seguindo procedimentos escritos e validados e estabelece a necessidade da existência de um rigoroso acompanhamento das condições de preparo, o qual deve ser realizado através de controles microbiológicos do processo (BRASIL, 2000).

No Brasil foram relatados casos de dietas enterais contaminadas, sendo que as dietas artesanais e em pó apresentaram mais altas porcentagens de

inadequação quando comparadas com dietas prontas para o uso. Os principais pontos críticos de controle identificados foram: a higienização e desinfecção de utensílios e equipamentos; o tempo de preparo associado com a temperatura do produto final e exposição em temperatura ambiente; a temperatura de refrigeração; a água; a higiene e a antisepsia de manipuladores e a higienização e desinfecção externa de embalagens (CARVALHO, 2000; OLIVEIRA, 2000; SANTOS, 2000; KESSLER *et al*, 2000; MITNE *et al*, 2001).

2. OBJETIVOS

Geral

Avaliar a qualidade microbiológica de dietas enterais antes e após a implantação do sistema APPCC, associado a melhorias na estrutura física das áreas de preparo da nutrição enteral de forma a atender às exigências da legislação.

Específicos

Antes e após a implantação do sistema APPCC no preparo de dietas enterais,

1. conhecer as condições de higienização de equipamentos e superfícies utilizados durante o preparo das dietas;
2. pesquisar a presença de *Staphylococcus aureus* em mãos e narinas de manipuladores de dietas enterais;
3. comparar a qualidade microbiológica das dietas armazenadas a 4°C em diferentes tempos após o preparo,
4. comparar a qualidade microbiológica das dietas enterais preparadas por dois grupos de manipuladores;
5. identificar pontos críticos de controle durante o preparo das dietas

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Protocolo do estudo

Este estudo foi conduzido no Setor de Nutrição Enteral do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, instituição pública de ensino universitário com 500 leitos e que prepara em média 8.000 frascos de dietas enterais/mês, (266 frascos/dia).

Foram feitas análises microbiológicas das dietas enterais em dois diferentes momentos: antes e após a implementação do sistema APPCC. O primeiro momento (pré APPCC) foi conduzido no período de 1 a 30 de março de 2004 e o segundo (pós APPCC) no período de 1 a 25 de novembro de 2004.

Foram analisados 3 diferentes tipos de dietas enterais:

1. Dietas artesanais - preparadas com frutas, açúcar, leite tipo C pasteurizado e fervido, e suplemento nutricional em pó, industrializado, misturados em liquidificador;
2. Dietas industrializadas em pó - nutricionalmente completas, reconstituídas com água fervida e misturadas em liquidificador ou com uso de colher, peneira e jarra de vidro graduada;
3. Dietas industrializadas líquidas - nutricionalmente completas, necessitando apenas abrir a embalagem e posicionar nos frascos de infusão da dieta.

Também foram analisados liquidificadores; superfície de latas; água fervida usada no preparo das dietas; água filtrada usada na higienização de utensílios e equipamentos, mãos e narinas de manipuladores de alimentos.

Os resultados foram comparados nos dois momentos referidos, e em cinco diferente tempos de estocagem a 4°C (1, 2, 4, 9 e 18 horas) conforme a rotina do serviço e também em dois diferentes grupos de manipuladores que trabalhavam em dias alternados conforme escala de trabalho.

3.2 Pré APPCC

A unidade de preparo de dietas enterais possuía uma área com 18 m² (anexo I), onde eram realizadas as seguintes atividades: recepção e armazenamento de insumos; desinfecção externa das embalagens; higienização e desinfecção dos utensílios; paramentação de manipuladores (pro-pé, capote, touca e máscara); recebimento de solicitações de dietas; elaboração de rótulos e etiquetagem dos frascos; diversas atividades de pré-preparo (sanificar e picar frutas; fervura de água e leite); preparo de dietas; armazenamento de dietas prontas e distribuição. Devido à deficiente estrutura física, o layout (Anexo I) levava a um importante cruzamento de fluxo entre as atividades realizadas.

Neste primeiro momento o setor possuía quatro manipuladores de alimentos que se revezavam em dois grupos de trabalho em dias alternados. Estes não possuíam programa de treinamento formal específico nem fluxograma orientando as diferentes etapas de preparo das dietas.

3.3 Implantação do sistema APPCC

Para adequação ao sistema APPCC foram realizados os seguintes procedimentos:

1. As dietas em pó e líquidas passaram a ser preparadas em uma área exclusiva, com layout desenvolvido de forma a não haver cruzamentos de fluxo entre as diversas atividades de preparo, conforme as exigências da ANVISA (BRASIL, 2000). A área total (126 m²) é subdividida em diferentes ambientes, contendo: vestiários com facilidades para a realização de banho, paramentação e lavagem das mãos; depósito de material de limpeza; armazenamento de insumos; higienização de utensílios; preparo; armazenamento de dietas preparadas; recepção (Anexo II).
2. Por ser necessária a fervura do leite e não ser permitida pela ANVISA (BRASIL, 2000) a presença de fogão no local de preparo das dietas enterais, estas passaram a ser preparadas em ambiente diferente daquele usado para o preparo de dietas industrializadas. Foi utilizada uma área de 18m² subdividida em dois ambientes, com layout semelhante ao anterior à implementação do sistema APPCC, não evitando cruzamento de fluxo de atividades;
3. Como decisão administrativa foi determinado pela chefia do Setor de Nutrição e Dietética iniciar a implantação do sistema APPCC apenas para as dietas industrializadas (pó e líquidas), portanto as dietas artesanais continuaram a ser preparadas da mesma forma que antes, porém os colaboradores foram treinados na realização de procedimentos de higiene;
4. No preparo das dietas em pó que anteriormente eram liquidificadas, foi eliminado o uso do liquidificador, e passaram a ser preparadas apenas com o auxílio de colheres, peneira e jarra de vidro graduada;
5. Aumento do número de manipuladores de alimentos para 10 colaboradores (2 para o preparo de dietas artesanais e 8 para o preparo das dietas líquidas e em pó). O maior número de manipuladores para as dietas industrializadas foi determinada para que cada colaborador se mantivesse em uma única atividade em um mesmo dia, evitando o cruzamento de atividades;
6. Os manipuladores antes de entrarem para a área de preparo de dietas enterais industrializadas, passaram a tomar banho em vestiário exclusivo e

paramentarem-se com capote e pro-pé esterilizados, e a usarem touca, máscara e luvas descartáveis.

7. Elaboração de manual de boas práticas
8. Elaboração de 20 procedimentos operacionais, orientando passo a passo cada atividade exercida pelos manipuladores de alimentos, incluindo:
 - Banho e paramentação;
 - Preparo da solução clorada;
 - Higienização de utensílios e embalagens de dietas enterais;
 - Higienização de mãos no setor de dietas enterais;
 - Uso do destilador;
 - Preparo de dietas enterais líquidas e pó;
 - Distribuição das dietas enterais;
 - Rotina diária de trabalho dos colaboradores de expedição;
 - Rotina diária de trabalho dos colaboradores da área de higienização;
 - Rotina diária de trabalho para o manipulador da área de manipulação;
9. Elaboração de fluxograma de preparo das dietas em pó e líquidas com as respectivas descrições de cada etapa de preparo.
10. Treinamento e capacitação dos colaboradores explicando detalhadamente todos os procedimentos a serem realizados, os resultados obtidos nas análises microbiológicas realizadas no primeiro momento do estudo (pré APPCC) foram apresentados, e ainda, foi enfatizado os pontos críticos de controle no preparo das dietas, conscientizando sobre os riscos para os pacientes em receber nutrição enteral contaminada.

3.4 Descrição das etapas de preparo das dietas líquidas

- § **Recebimento das matérias-primas:** conforme descrito no Manual de Boas Práticas, verificando as condições das embalagens, entregador, veículo e laudo de análise microbiológica do lote fabricado.
- § **Armazenamento:** conforme descrito no Manual de Boas Práticas, observando espaçamento entre as embalagens, temperatura ambiente e rotatividade de estoque.
- § **Sanitização das embalagens de dietas:** sanitizar embalagens com álcool 70% de acordo com Procedimento Operacional Padrão.
- § **Rotulagem:** são anotados e aderidos ao frasco de dietas um rótulo com as seguintes informações: nome do paciente, nº do leito, registro hospitalar, composição qualitativa e quantitativa de todos os componentes, volume total, velocidade de administração, via de acesso, data e hora da manipulação, prazo de validade, número sequencial de controle e condições de temperatura para conservação, nome e número no Conselho Profissional do respectivo responsável técnico pelo processo.
- § **Transferência:** Os materiais (frascos, embalagens e utensílios) são transferidos através de dupla janela. O funcionário da higienização abre a janela do lado de sua sala para, assim, colocar os materiais entre as duas janelas, fechando-a logo após. O funcionário da manipulação abre a janela da sua sala, retirando os materiais e fechando-a logo após.
- § **Envase:** as dietas são transferidas das embalagens originais para os frascos devidamente rotulados.
- § **Contra prova:** retirar as amostras para contra-prova conforme Procedimento Operacional Padrão.
- § **Expedição e conservação a frio:** as dietas preparadas são transferidas através de guichê de dupla porta, da área de manipulação para área de expedição e armazenadas em geladeira exclusiva em temperatura 2-8°C até que sejam retiradas para distribuição.
- § **Inspeção Visual:** realizar inspeção da dieta verificando a ocorrência de qualquer irregularidade na cor, viscosidade e homogeneidade.
- § **Transporte:** as dietas enterais devidamente rotuladas são acondicionadas em caixas térmicas e transportadas sempre de 30 à 45 minutos antes do

horário de infusão por uma funcionária da nutrição enteral para todas as enfermarias, não demorando mais do que 30 minutos.

- § **Distribuição:** as dietas são entregues em cada clínica para a equipe de enfermagem responsável pela administração, no ato de entrega é feito o protocolamento de todas dietas entregues para a equipe de enfermagem.
- § **Administração:** O pessoal da enfermagem faz e inspeção visual do produto, a verificação da integridade da embalagem e da exatidão das informações contidas no rótulo. A instalação da dieta obedece todos os cuidados assépticos recomendados pela CCIH (Comissão de Controle de Infecção Hospitalar). As dietas são infundidas no prazo máximo de 12horas.

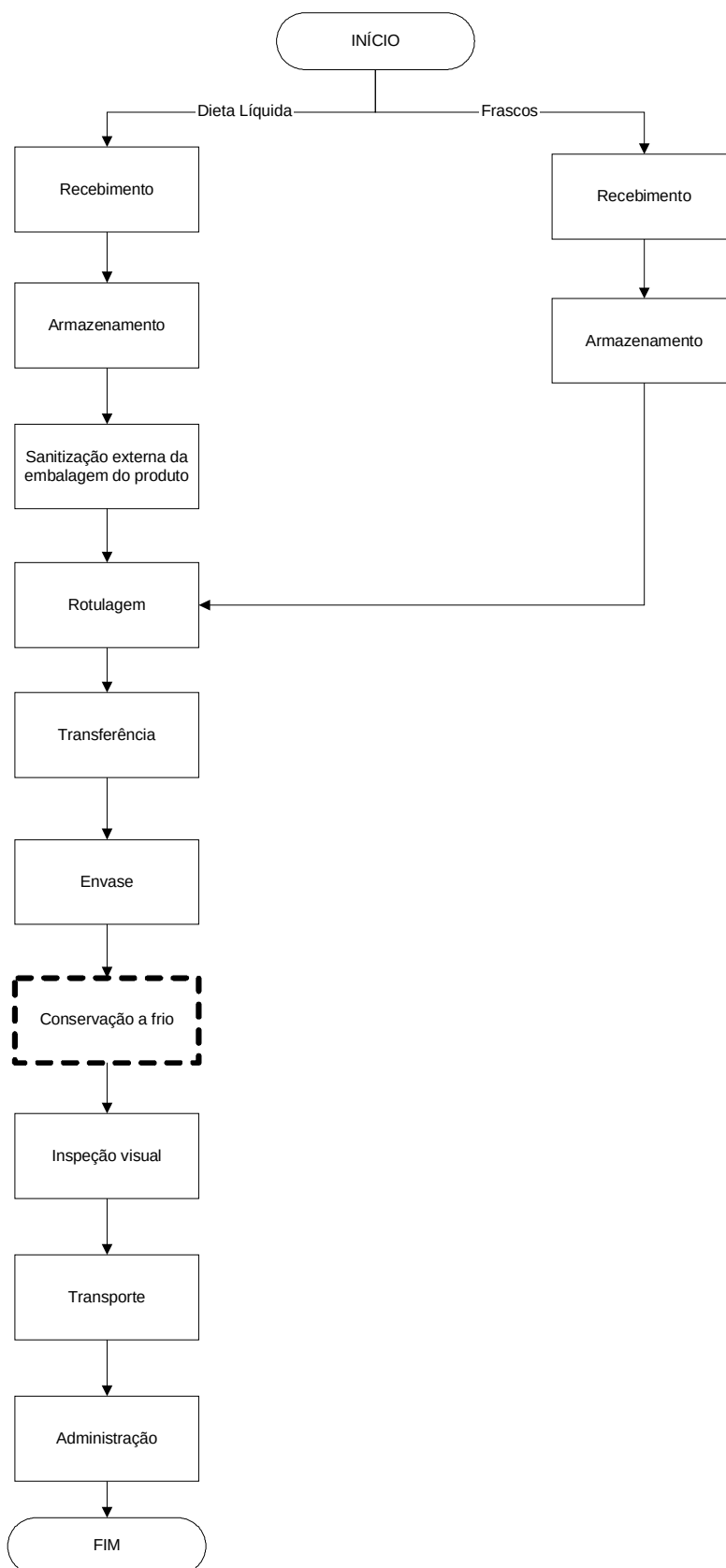
3.5 Descrição das etapas de preparo das dietas em pó

- § **Recebimento das matérias-primas:** conforme descrito no Manual de Boas Práticas, verificando as condições das embalagens, entregador, veículo e laudo de análise microbiológica do lote fabricado.
- § **Armazenamento:** conforme descrito no Manual de Boas Práticas, observando espaçamento entre as embalagens, temperatura ambiente e rotatividade de estoque .
- § **Sanitização das embalagens de dietas:** sanitizar embalagens com álcool 70% de acordo com Procedimento Operacional Padrão.
- § **Rotulagem:** são anotados e aderidos ao frasco de dietas um rótulo com as seguintes informações: nome do paciente, nº do leito, registro hospitalar, composição qualitativa e quantitativa de todos os componentes, volume total, velocidade de administração, via de acesso, data e hora da manipulação, prazo de validade, número sequencial de controle e condições de temperatura para conservação, nome e número no Conselho Profissional do respectivo responsável técnico pelo processo.
- § **Transferência:** Os materiais (frascos, embalagens e utensílios) são transferidos através de dupla janela. O funcionário da higienização abre a janela do lado de sua sala para, assim, colocar os materiais entre as duas janelas, fechando-a logo após. O funcionário da manipulação abre a janela da sua sala, retirando os materiais e fechando-a logo após.
- § **Pesagem:** Com o uso da balança as dietas em pó são pesadas em recipiente descartável antes de reconstituí-las.
- § **Destilação da água usada no preparo:** processo que envolve a utilização de equipamento de destilação abre-se o registro aguarda 10 minutos, liga-se o equipamento e recolhe a água com cuidado para não contaminar. Esta água é estéril e pode ser utilizada por um período de até 4 horas desde que devidamente protegida. Ou ferver a água em recipiente inox com uso do ebulidor, na sala de preparo.
- § **Reconstituição das fórmulas:** mede-se o volume de água necessário e acrescenta o todo o pó do envelope conforme diluição recomendada pelo fabricante ou as medidas da latas conforme as tabelas de diluição calculadas

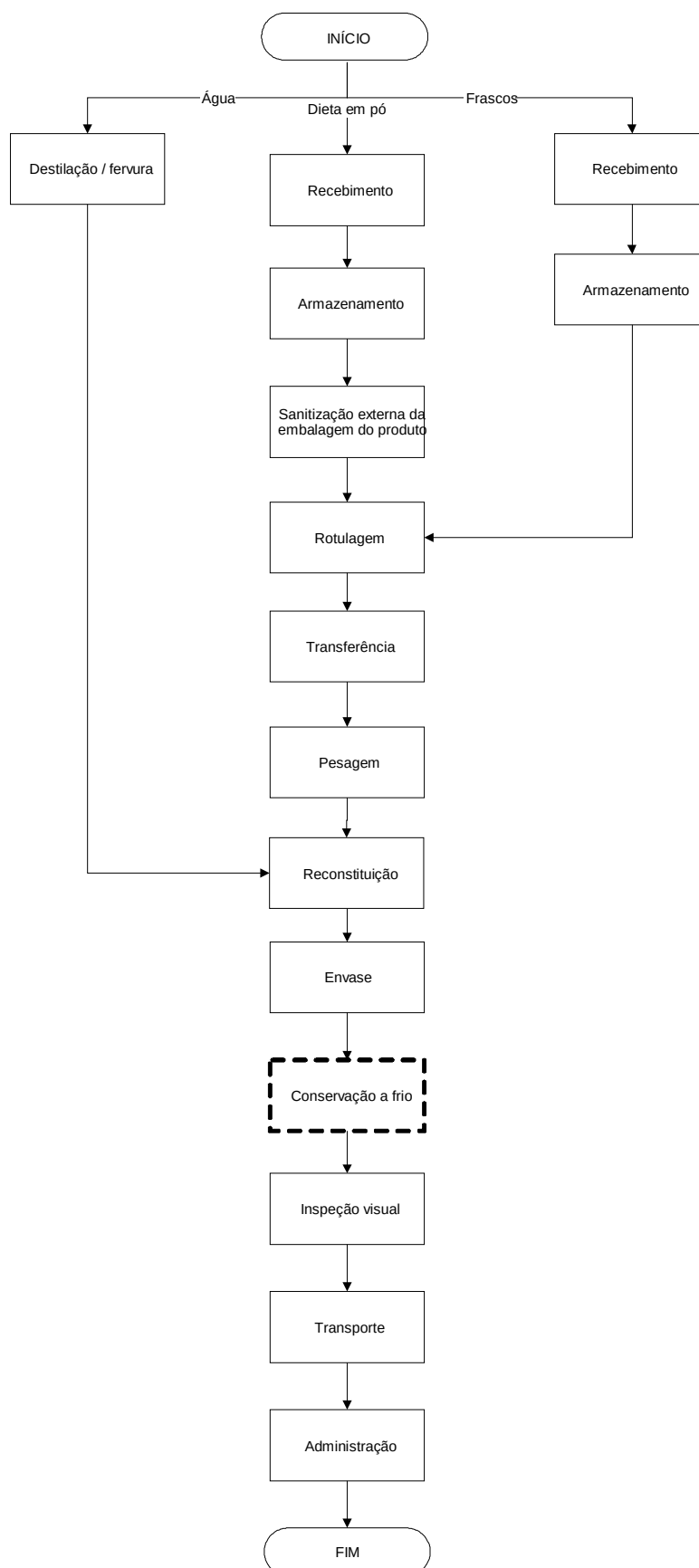
pelo nutricionista, mistura-se com colher e passa por peneira fina adequadamente higienizados.

- § **Envase:** as dietas são transferidas das embalagens originais para os frascos devidamente rotulados.
- § **Contra prova:** retirar as amostras para contra-prova conforme Procedimento Operacional Padrão.
- § **Expedição e conservação a frio:** as dietas preparadas são transferidas através de guichê de dupla porta, da área de manipulação para área de expedição e armazenadas em geladeira exclusiva em temperatura máxima de 6°C até que sejam retiradas para distribuição.
- § **Inspeção Visual: realizar inspeção da dieta** e preencher o anexo 0329.
- § **Transporte:** as dietas enterais devidamente rotuladas são acondicionadas em caixas térmicas e transportadas sempre de 30 à 45 minutos antes do horário de infusão por uma funcionária da nutrição enteral para todas as enfermarias, não demorando mais do que 30 minutos.
- § **Distribuição:** as dietas são entregues em cada clínica para a equipe de enfermagem responsável pela administração, no ato de entrega é feito o protocolamento de todas dietas entregues para a equipe de enfermagem.
- § **Administração:** O pessoal da enfermagem faz e inspeção visual do produto, a verificação da integridade da embalagem e da exatidão das informações contidas no rótulo. A instalação da dieta obedece todos os cuidados assépticos recomendados pela CCIH. As dietas são infundidas no prazo máximo de 8 horas.

3.6 Fluxograma de preparo das dietas líquidas



3.7 Fluxograma de preparo das dietas em pó



3.8 Coleta Acondicionamento e Transporte das Amostras

As coletas de amostras para análise foram realizadas em dois momentos: antes e após a implantação do sistema APPCC.

3.8.1 Dietas

Foram colhidas amostras de 100 mL das dietas artesanais, pó e líquidas. A coleta foi realizada imediatamente após o envase nos frascos de administração, que eram acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados ao laboratório onde ficavam armazenados a 4°C. As análises microbiológicas foram realizadas após diferentes períodos de armazenamento (1, 2, 4, 9 e 18 horas), simulando os prazos usuais de distribuição aos pacientes na rotina do setor.

Foram realizadas as seguintes análises:

- contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas;
- número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais;
- contagem de *Staphylococcus aureus*;
- contagem de *Bacillus cereus*;
- contagem de *Clostridium perfringens*;
- presença/ausência de *Salmonella* spp em 25g;
- presença/ausência de *Listeria* spp em 25g;

3.8.2 Água

Foram colhidas para quantificação de bactérias aeróbias mesófilas e NMP de coliformes totais e fecais, em cada repetição, amostras de água em dois pontos distintos:

1. água filtrada da torneira que era utilizada na higienização dos utensílios e equipamentos usados no preparo das dietas enterais;
2. água fervida diretamente do recipiente em que era aquecida e que era utilizada no preparo da dieta.

As amostras de água foram colhidas em sacos plásticos estéreis, contendo 1 mL de solução de tiosulfato por 100 mL de água da água de torneira como neutralizante do cloro residual.

3.8.3 Equipamentos e utensílios

Foram colhidas amostras dos liquidificadores em cada grupo de trabalho para quantificação de bactérias mesófilas e de coliformes fecais.

A coleta foi realizada após limpeza e desinfecção do liquidificador com hipoclorito de sódio 200 ppm, conforme a rotina do serviço. Era solicitado que o manipulador realizasse a coleta com os mesmos cuidados que eles tinham durante o preparo das dietas. A amostra para análise constituiu-se de 90 mL de água peptonada estéril liquidificada por 1 minuto, que era imediatamente transportada ao laboratório em caixas isotérmicas.

Amostras da superfície externa das embalagens das dietas enterais líquidas (latas e tetrapack), foram colhidas após limpeza e desinfecção usuais realizadas pelos manipuladores do setor, antes da abertura das mesmas. As coletas foram realizadas pela pesquisadora após a higienização e assepsia das mãos, com o auxílio molde de 15 cm² estéril e *swab* previamente umedecido em água peptonada estéril. O *swab* era esfregado na região delimitada pelo molde no sentido vertical iniciando na lateral esquerda e terminando na lateral direita, e após, mergulhado em 10 mL de água peptonada estéril e encaminhado ao laboratório em caixas isotérmicas para contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e NMP de coliformes totais e fecais.

Coleta de amostras das mãos e narinas dos manipuladores foi realizada com o auxílio de *swab* estéril previamente umedecido em caldo BHI (Infusão Cérebro Coração). A coleta foi realizada diretamente na superfície da mão do manipulador quando este estava na atividade de higienização de utensílios ou da superfície da luva, quando o manipulador estava preparando dietas. O *swab* foi deslizado na palma da mão direita, entre os dedos e nos contornos das unhas ou pontas dos dedos, no caso do uso de luvas. O *swab* foi então mergulhado no caldo BHI e encaminhado imediatamente para o laboratório em caixas isotérmicas para realização das análises. Foi determinada a presença ou ausência de *Staphylococcus aureus*.

3.9 Métodos Laboratoriais

3.9.1 Processamento das Amostras

As amostras foram processadas no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, no prazo máximo de duas horas após a coleta ou no caso das dietas, após o período de armazenamento refrigerado previamente estipulado.

No laboratório, os frascos contendo as amostras eram higienizados externamente com álcool etílico 70% e colocados no interior de fluxo laminar.

3.9.2 Preparo das Diluições

Para preparo das diluições decimais sucessivas foi utilizada água peptonada tamponada estéril (APT) 0,1%. Nas dietas, inicialmente 25g da amostra previamente homogeneizada era adicionada a 225mL de água peptonada, (AP) constituindo a diluição 10^{-1} , as outras diluições foram realizadas em tubos de 9mL. Nas demais amostras, as diluições foram preparadas diretamente em 9 mL de APT.

3.9.3 Protocolos de análise

3.9.3.1 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas

As análises foram realizadas conforme protocolo preconizado pela APHA (1992). Eram semeadas em placas de Petri estéreis, 1mL ou 1g da amostra original (10^0) e das diluições decimais selecionadas. Em seguida era adicionado 15mL de ágar Plate Count (PCA) previamente fundido e resfriado à temperatura de 45°C e após solidificação, as placas eram incubadas em posição invertida em estufa a 35°-37°C/48 horas. Eram selecionadas para contagem placas contendo 25-250 colônias e o resultado multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e o resultado expresso como unidades formadoras de colônias por grama ou mililitro (UFC g⁻¹ ou UFC mL⁻¹).

3.9.3.2 Número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais (APHA, 1992)

Constou de teste presuntivo e confirmatório:

A) Teste presuntivo – o enriquecimento não seletivo foi realizado com a inoculação de porções de 1mL, 0,1mL e 0,01mL da amostra em 3 séries de 3 tubos de caldo lauril sulfato triptose (LST), concentração simples, com tubo invertido de Durham a 35°C/48 horas. A prova foi considerada positiva quando apresentou turvação do meio e presença de gás, nos tubos invertidos de Durham.

B) Teste confirmatório – os tubos positivos no teste presuntivo foram repicados em paralelo para caldo lactose bile verde brilhante (VB) e caldo E.C., para confirmação de coliformes totais e fecais, respectivamente. A incubação do caldo VB foi realizada a 35°C e o caldo EC a 45°C, ambos por 48 horas. Os tubos que apresentaram produção de gás nos tubos invertidos de Durham foram anotados e comparados à tabela de Hoskins e o resultado expresso como NMP de coliformes totais e fecais por mL da amostra.

Para análise do NMP para coliformes totais e fecais da águas, as análises foram realizadas na mesma seqüência, porém com inoculação de 10mL, 1mL e 0,1mL em 3 séries de 5 tubos na prova presuntiva, sendo a primeira de caldo LST com concentração dupla. A confirmação foi realizada em caldo VB e EC e o resultado expresso como NMP/100mL de água.

3.9.3.3 Contagem de *Staphylococcus aureus* (APHA, 1992)

Foram retiradas assepticamente 1mL da amostra que foi distribuído na superfície de quatro placas de Petri (alíquotas de 0,2; 0,2; 0,3 e 0,3 mL) contendo ágar Baird-Parker (BP). Após distribuição do inóculo com o auxílio de alça de Drigalsky, as placas foram incubadas em posição invertida em estufa a 35°- 37°C por 48 horas.

Após incubação, foram contadas as colônias típicas (negras, pequenas, lisas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente) e atípicas (negras, sem halo). Colônias representativas de cada grupo (mínimo de 5 por grupo) foram repicadas em ágar nutriente invertido e submetidas às provas de catalase, coagulase e coloração de Gram. As colônias características de

Staphylococcus aureus (cocos Gram positivas, catalase e coagulase positivas) eram utilizadas juntamente com o fator de diluição para calcular o número de unidades formadoras de colônias da amostra.

3.9.3.4 Contagem de *Bacillus cereus* (SILVA et. al. 2001)

Foram semeadas assepticamente 0,1mL de cada diluição selecionada na superfície das placas de Petri contendo ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP). As placas foram incubadas em posição invertida em estufa a 30°C por 24 horas. As colônias típicas (esféricas, com bordas perfeitas, planas, secas e cerosas, rodeadas por um grande halo de precipitação, com toda a região do meio ao redor com uma coloração rósea leitosa) Foram contadas, anotadas e, no mínimo 5, semeadas em ágar nutriente. Após, foram submetidas às seguintes provas: utilização anaeróbia de glicose, decomposição da tirosina, Voges-Proskauer, redução de nitrato, motilidade, crescimento rizóide e atividade hemolítica. Eram consideradas como pertencentes ao grupo *Bacillus cereus* as culturas que fossem positivas em todos os testes, exceto para a redução de nitrato que poderia ser positiva ou negativa. O número de colônias confirmadas era multiplicado pela recíproca da diluição e expresso como UFC g⁻¹.

3.9.3.5 Contagem de *Clostridium perfringens* (SILVA et. al. 2001)

Foram semeadas assepticamente, alíquotas de 1 mL da amostra pura e de cada diluição selecionada em placas de Petri estéreis. Em seguida foi adicionado ágar triptose sulfito cicloserina (TSC) previamente fundido e resfriado à temperatura de 45°C, com sobrecamada. Após a solidificação, as placas eram incubadas em anaerobiose em posição invertida em estufa a 35°-37°C por 48 horas. Eram selecionadas aproximadamente 10 colônias típicas (negras) para confirmação com provas bioquímicas.

3.9.3.6 Presença/ausência de *Salmonella* spp em 25g da amostra (SILVA et. al. 2001)

Para o enriquecimento não seletivo foram pesadas assepticamente 25g da amostra em 225 mL de água peptonada tamponada estéril (APT). Após incubação a 35°-37°C por 18-24 horas, 1 mL foi transferido em paralelo para enriquecimento seletivo em tubos com 10 mL de Caldo tetrationato (TT) Caldo selenito e cistina (SC), incubados por 24 horas a 42°C e a 35°-37°C, respectivamente. Após homogeneização em “vortex”, as amostras foram estriadas em meios seletivos: ágar entérico de Hectoen (HE) e ágar xilose lisina desoxicilato (XLD), ambos incubadas 35°-37°C por 24 horas. Colônias típicas foram submetidas a provas bioquímicas e sorológicas.

3.9.3.7 Presença/ausência de *Listeria* spp em 25g da amostra (Manual de instruções do Kit TECRA®)

Para a detecção de *Listeria* spp foi adicionado 25 mL da amostra em 225 mL de meio para pré-enriquecimento com TECRA Buffered Listeria Enrichment Broth (TBLEB) suplementado com TECRA Listeria Enrichment Supplement (LUSSUP20), após homogeneização foi incubado a 35-37°C por 24-26 hs e posteriormente a análise foi realizada segundo os procedimentos descritos no manual de instruções do Kit TECRA® UNIQUE™ Listeria Lote nº 39204025.

3.10 Avaliação da adequação das dietas

Na atividade de avaliação da adequação das dietas, adotamos o padrão da ANVISA (BRASIL, 2000), com os seguintes critérios relativos aos microrganismos: $\geq 10^3$ UFC mL⁻¹ para contagens de bactérias mesófilas, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*; ≥ 3 UFC mL⁻¹ para *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e fecais; e, ausência de *Salmonella* spp e *Listeria* spp.

3.11 Análise de Dados

Os resultados foram analisados pelos testes estatísticos:

3.11.1 Teste de Mann-Whitney

Utilizado para dados não paramétricos;

3.11.2 Teste χ^2 (Qui-Quadrado)

Utilizado para comparações dos percentuais de adequação entre as dietas antes e após a implementação do sistema APPCC.

4. Resultados

4.1 Análises das dietas no primeiro momento do estudo – Pré APPCC

As contagens de bactérias mesófilas, coliformes totais, coliformes fecais, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, realizadas nos três tipos de dietas (artesanais; industrializadas em pó e líquidas) armazenadas sob refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas e também nos dois grupos de trabalho (Grupo 1 e Grupo 2) após o preparo são mostradas respectivamente nas figuras 1, 2, 3, 4 e 5.

A contagem de bactérias mesófilas (Figura 1) demonstra que 7/8 (87,5%) das dietas artesanais e 5/8 (62,5%) das dietas em pó apresentaram contagens acima dos preconizados pela ANVISA (2002), que é de $3,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹. A proporção de contagens inadequadas foram similares nos grupos 1 e 2 ($p > 0,05$).

A contagem máxima de coliformes totais e fecais preconizadas pela ANVISA (2002) é de $3,0 \times 10^0$ UFC mL⁻¹. Contagens de coliformes totais acima do padrão recomendado foram observadas em 5/8 (62,5%) das dietas artesanais e 6/8 (75,0%) das dietas em pó (Figura 2). Inadequação quanto as contagens de coliformes fecais foi demonstrada em 4/8 (50%) das dietas artesanais e 5/8 (62,5%) das dietas em pó (Figura 3). Quando da comparação dos grupos, só foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para as contagens de coliformes fecais.

As contagens de *Staphylococcus aureus* (Figura 4) também foram diferentes ($p < 0,05$) quando os dois grupos de trabalho foram comparados, mostrando uma maior porcentagem de inadequação nas dietas produzidas pelo Grupo 1. O limite máximo para esse microrganismo é de $3,0 \times 10^0$ UFC mL⁻¹ (BRASIL, 2000). Contagens maiores que o padrão foram observadas em 3/8 (37,5%) das dietas artesanais e 2/8 (25,0%) das dietas em pó.

As contagens de *Bacillus cereus* (Figura 5) demonstraram tendência semelhante às de *Staphylococcus aureus*. Contagens desse microrganismo só foram observadas nas dietas preparadas pelo grupo 1 ($p < 0,05$), que apresentaram inadequação de 37,5% (3/8) para as dietas artesanais e 25,0% (2/8) para as dietas em pó. A contagem máxima permitida é de $1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ (BRASIL, 2000).

As contagens de microrganismos nas dietas após a manutenção sob refrigeração nos diversos tempos não mostraram diferenças significativas ($p>0,05$), excetuando-se a de bactérias mesófilas, quando foram comparados os resultados das contagens após 2 e 4 horas e 2 e 9 horas, sendo que os valores encontrados no tempo 9 foram os mais elevados.

As dietas líquidas não apresentaram contagens para nenhum dos microrganismos analisados, neste momento do estudo.

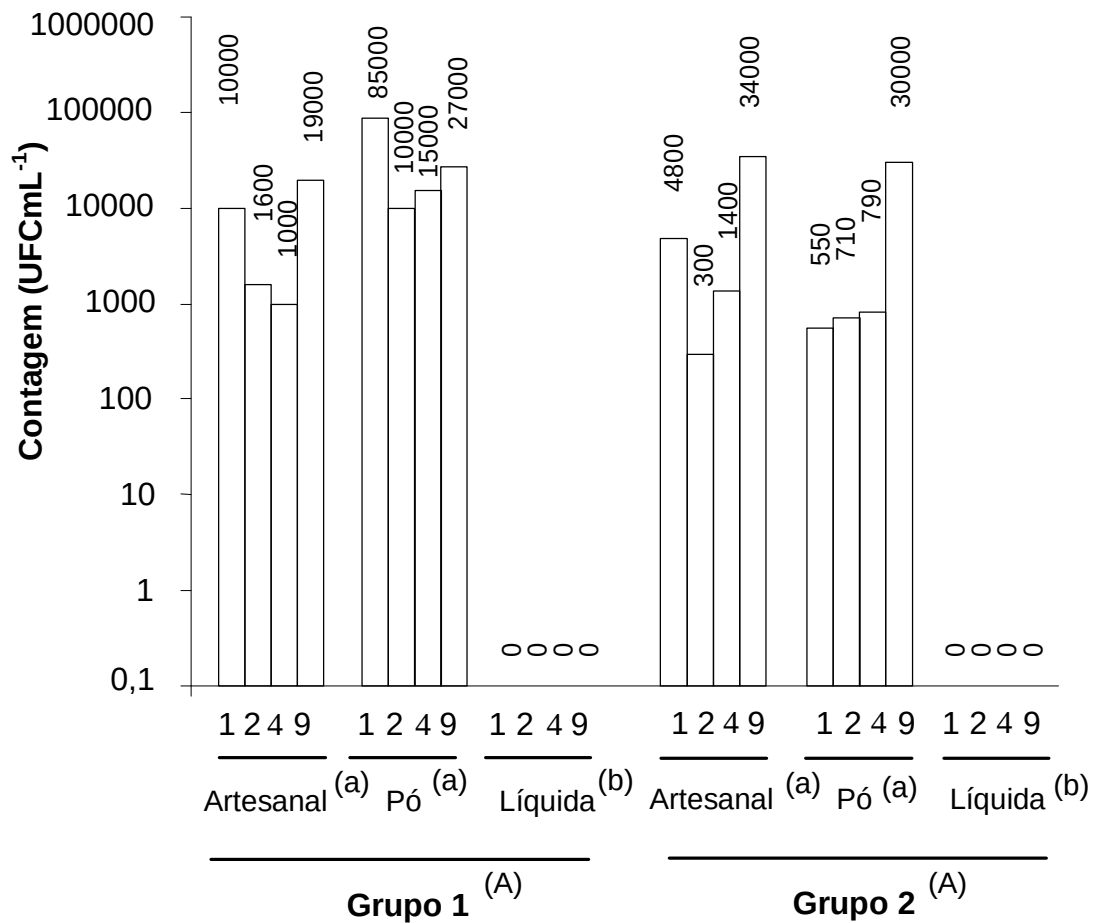


Figura 1: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de bactérias mesófilas (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC nº 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): ($p < 0,05$) dentro de cada grupo.

(A=A): ($p > 0,05$) semelhança entre os grupos.

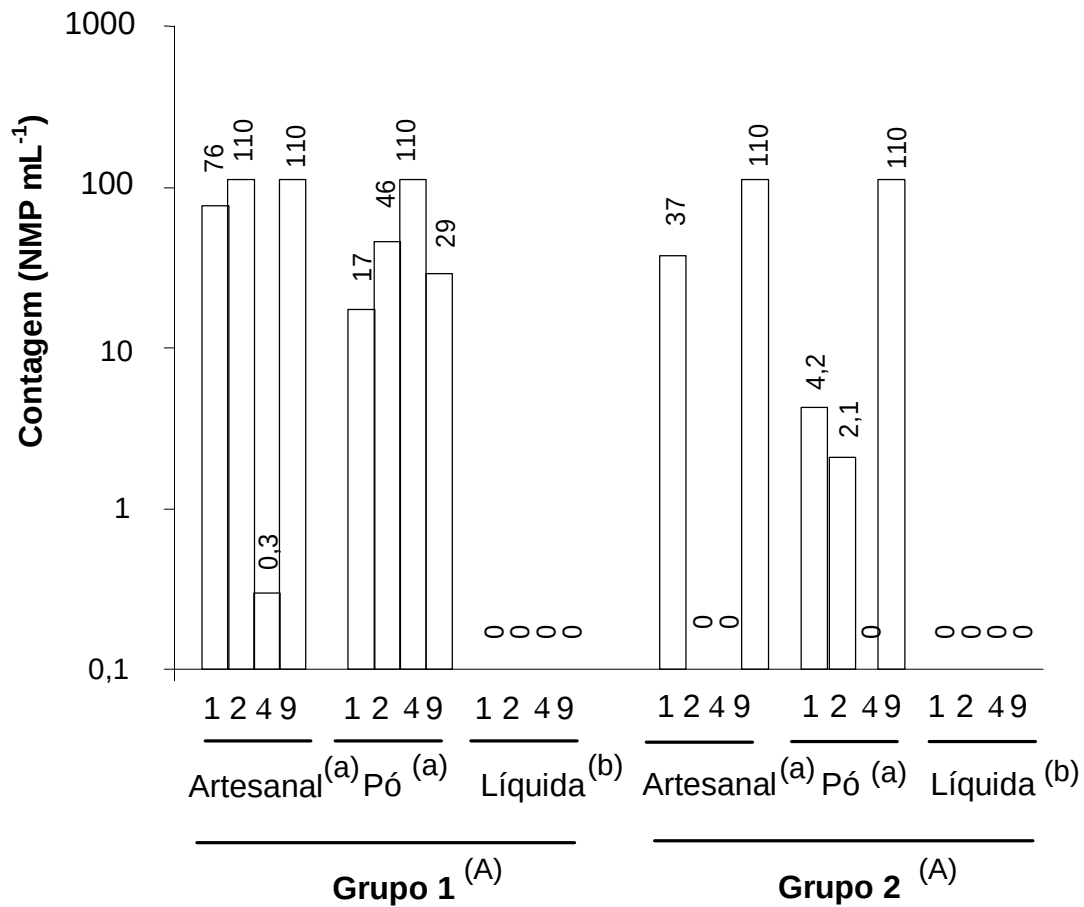


Figura 2: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de coliformes totais (NMP mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $3,0 \times 10^0$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC n° 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): (p < 0,05) dentro de cada grupo.

(A=A): (p > 0,05) semelhança entre os grupos.

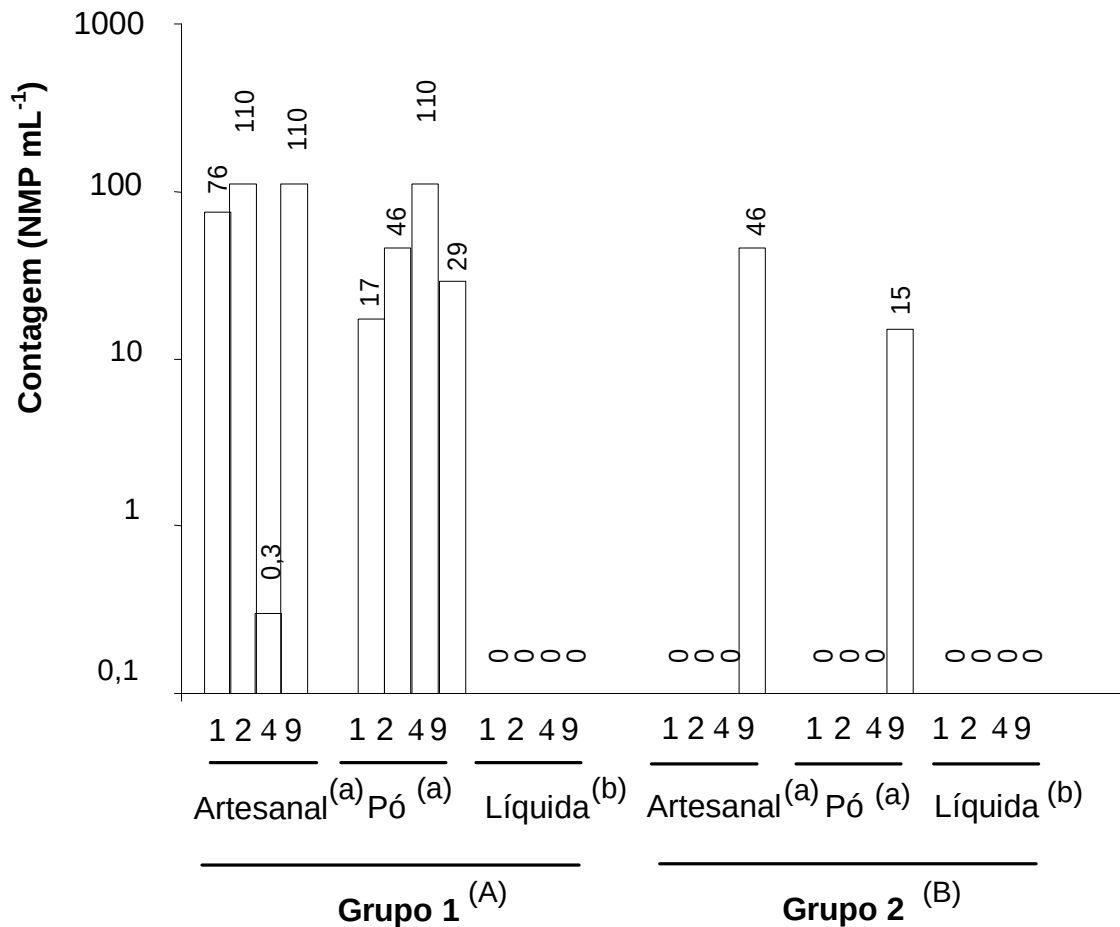


Figura 3: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de coliformes fecais (NMP mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $3,0 \times 10^0$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC nº 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): ($p < 0,05$) dentro de cada grupo.

(A ≠ B): ($p < 0,05$) diferença entre os grupos.

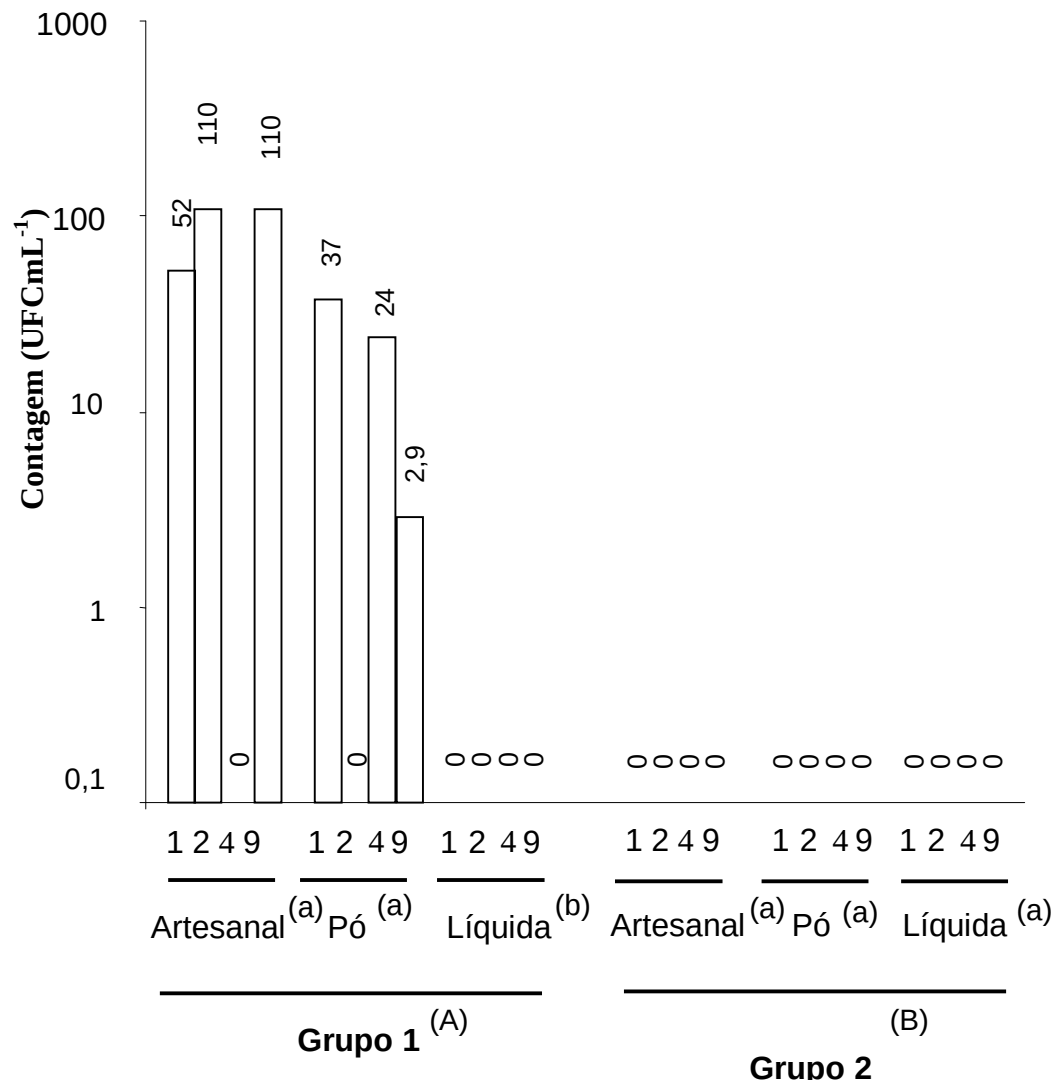


Figura 4: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de *Staphylococcus aureus* (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: 3,0 UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC nº 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): (p < 0,05) dentro de cada grupo.

(A ≠ B): (p < 0,05) diferença entre os grupos.

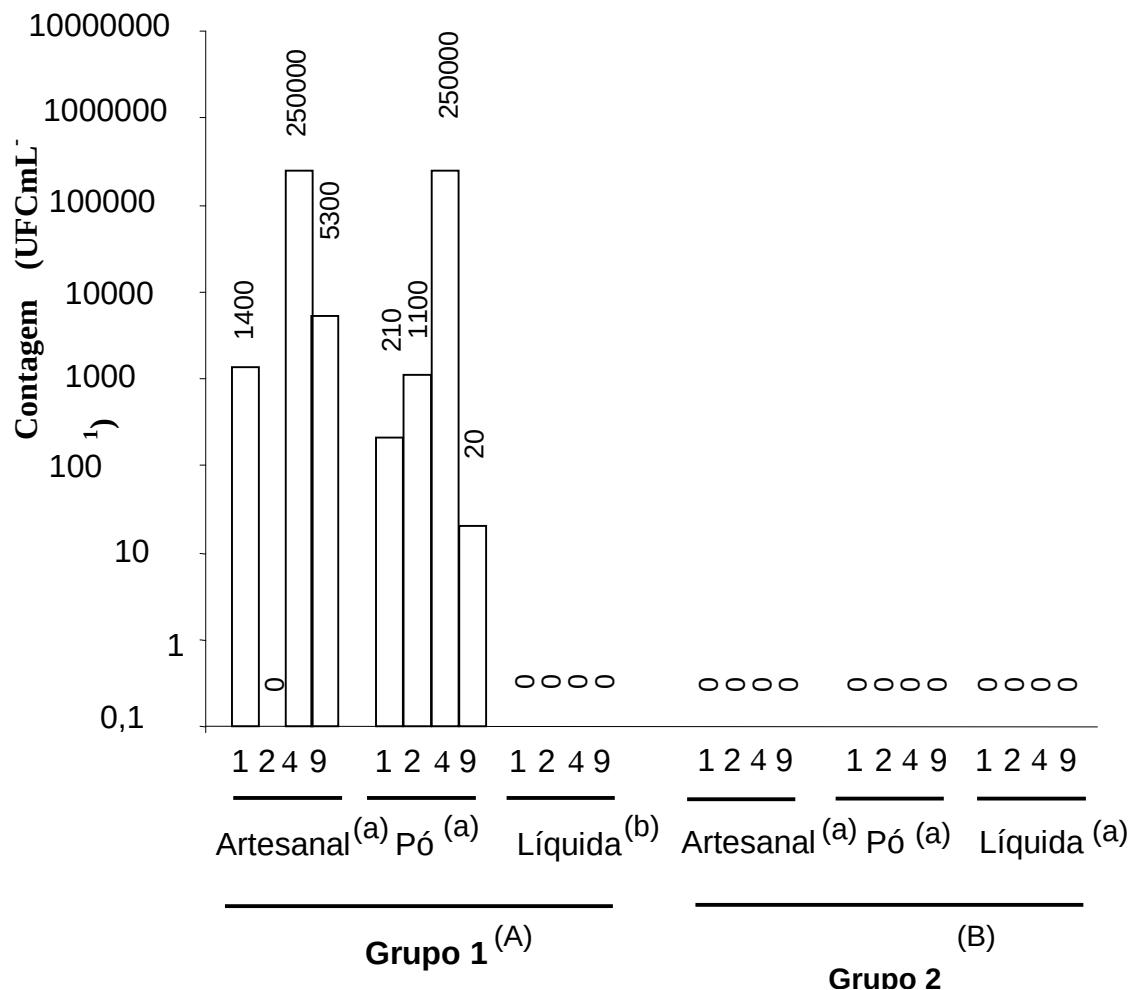


Figura 5: Resultados obtidos no primeiro momento do estudo (Pré APPCC), referente à contagem de *Bacillus cereus* (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC nº 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): (p < 0,05) dentro de cada grupo.

(A ≠ B): (p < 0,05) diferença entre os grupos.

4.2 Análises das dietas no segundo momento do estudo – Pós APPCC

Os resultados das análises microbiológicas após a implementação do sistema APPCC, para as contagens de bactérias mesófilas, coliformes totais e coliformes fecais, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, nos dois grupos de trabalho, para os três tipos de dietas armazenadas sob refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo estão nas Figuras 6, 7, 8 e 9.

As contagens de bactérias mesófilas, em dietas em pó apresentaram 100% de adequação em relação ao padrão vigente (BRASIL, 2000), demonstrando melhora nos índices de adequação ($p < 0,05$). Porém, essa mesma tendência não foi observada nas dietas artesanais, considerando que, 7/8 (87,5%) dietas apresentaram resultados acima dos permitidos, mesma porcentagem determinada antes da implementação APPCC. (Figura 6)

As contagens de coliformes totais das dietas em pó revelaram 100% de adequação enquanto as artesanais mostraram-se 100% inadequadas em relação ao padrão (Figura 7). Após a implementação do sistema APPCC, não houve contaminação por coliformes fecais em nenhuma das dietas estudadas.

A presença de *Staphylococcus aureus* ocorreu apenas em uma dieta em pó correspondendo a 12,5% de inadequação, e em duas dietas líquidas, porém estas últimas permaneceram 100% adequadas em relação ao padrão (Figura 8).

O microrganismo *Bacillus cereus* esteve presente em 2/8 dietas artesanais com 25% de inadequação e em nenhuma outra dieta (Figura 9).

Não foi identificada a presença de *Salmonella* spp, *C. perfringens* e *Listeria* spp em nenhuma das dietas analisadas.

Neste segundo momento a manutenção das dietas sob refrigeração não influenciou nas contagens obtidas para nenhum tipo de microrganismo nos diversos tempos analisados ($p > 0,05$).

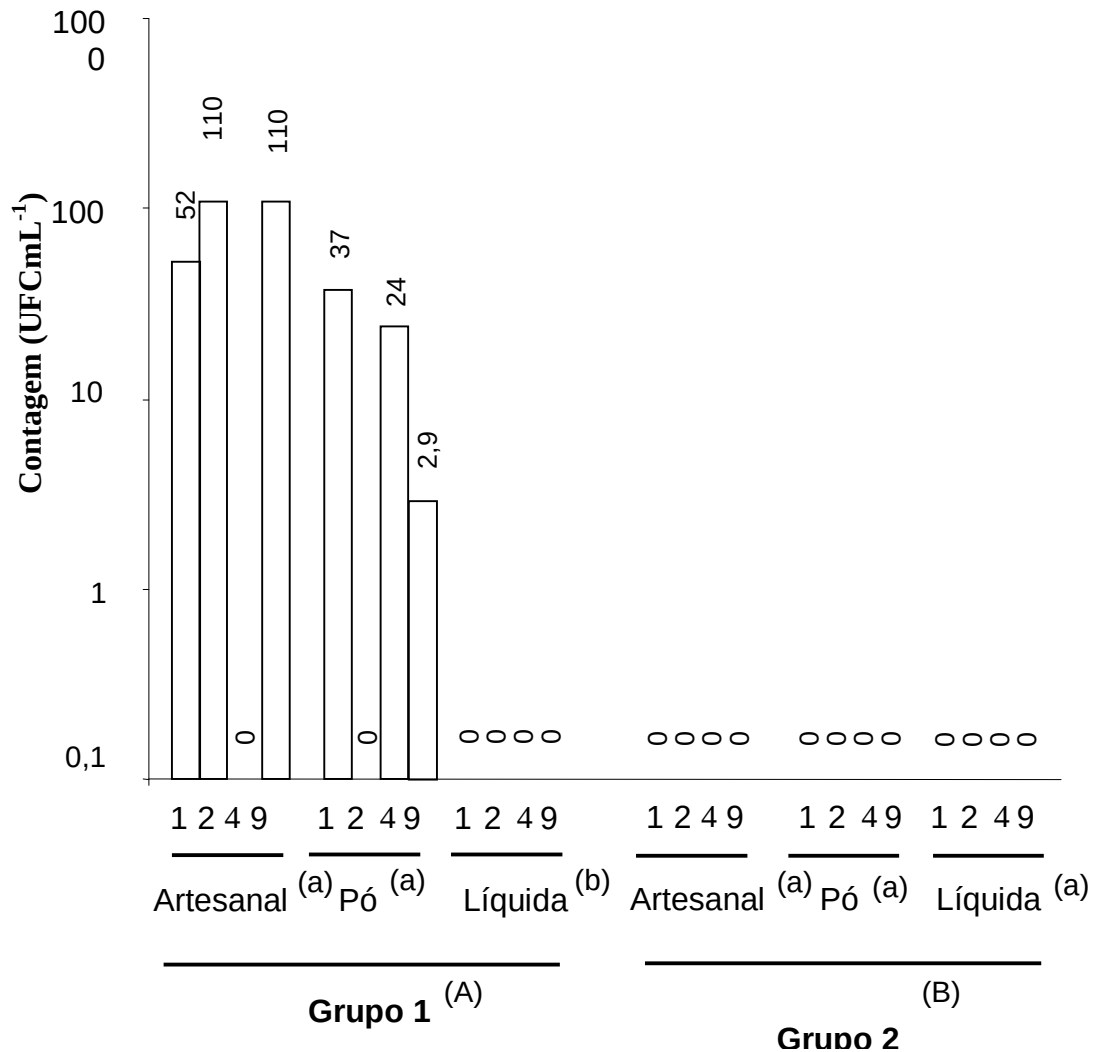


Figura 6: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de bactérias mesófilas (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC n° 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): (p < 0,05) dentro de cada grupo.

(A=A): (p > 0,05) semelhança entre os grupos.

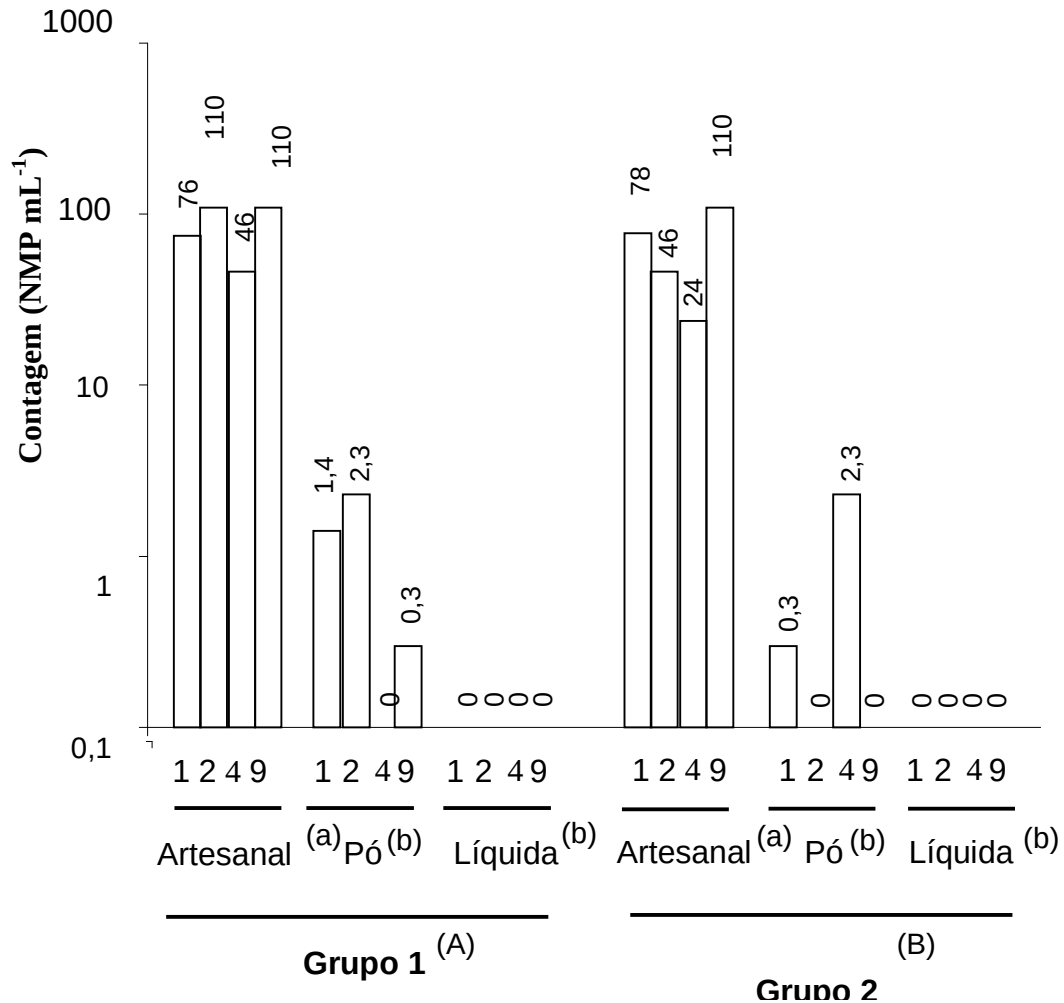


Figura 7: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de coliformes totais (NMP mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $3,0 \times 10^0$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC nº 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): (p < 0,05) dentro de cada grupo.

(A ≠ B): (p < 0,05) diferença entre os grupos.

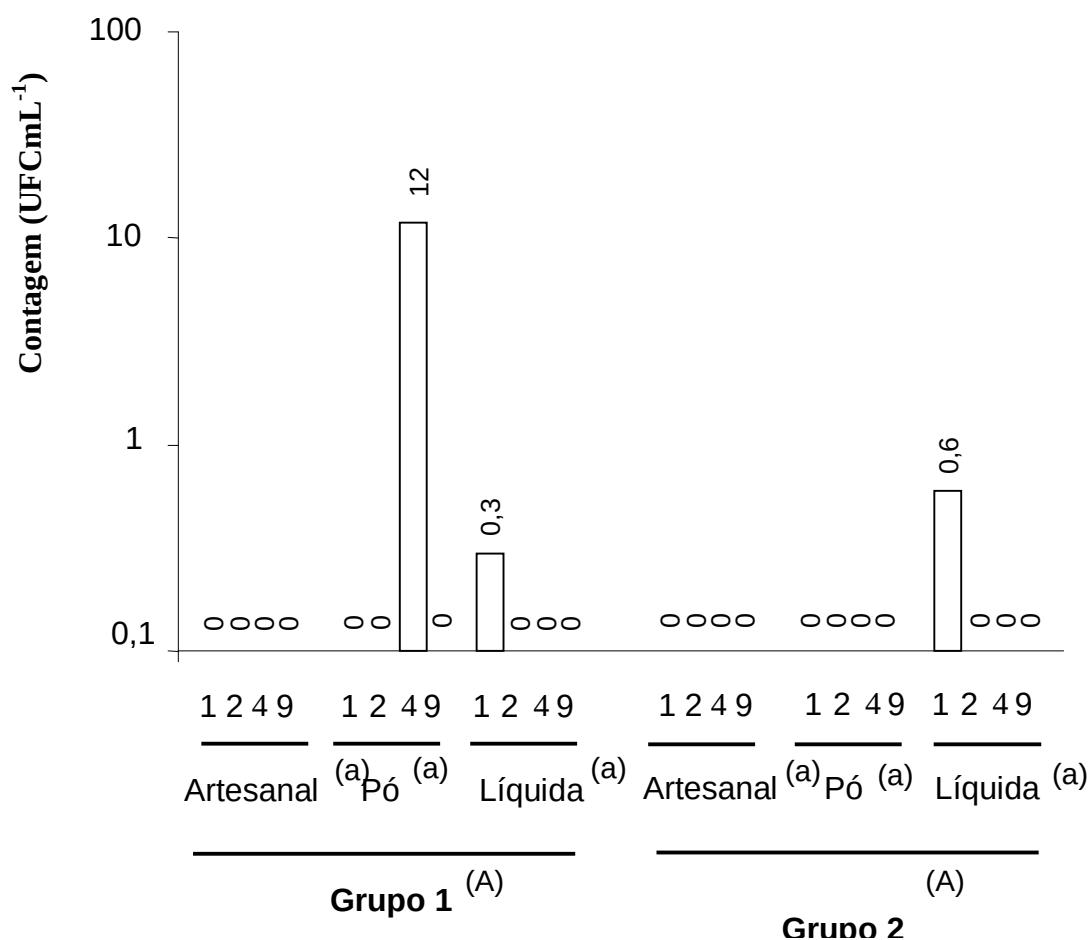


Figura 8: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de *Staphylococcus aureus* (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: $1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC n° 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): ($p < 0,05$) dentro de cada grupo.

(A=A): ($p > 0,05$) semelhança entre os grupos.

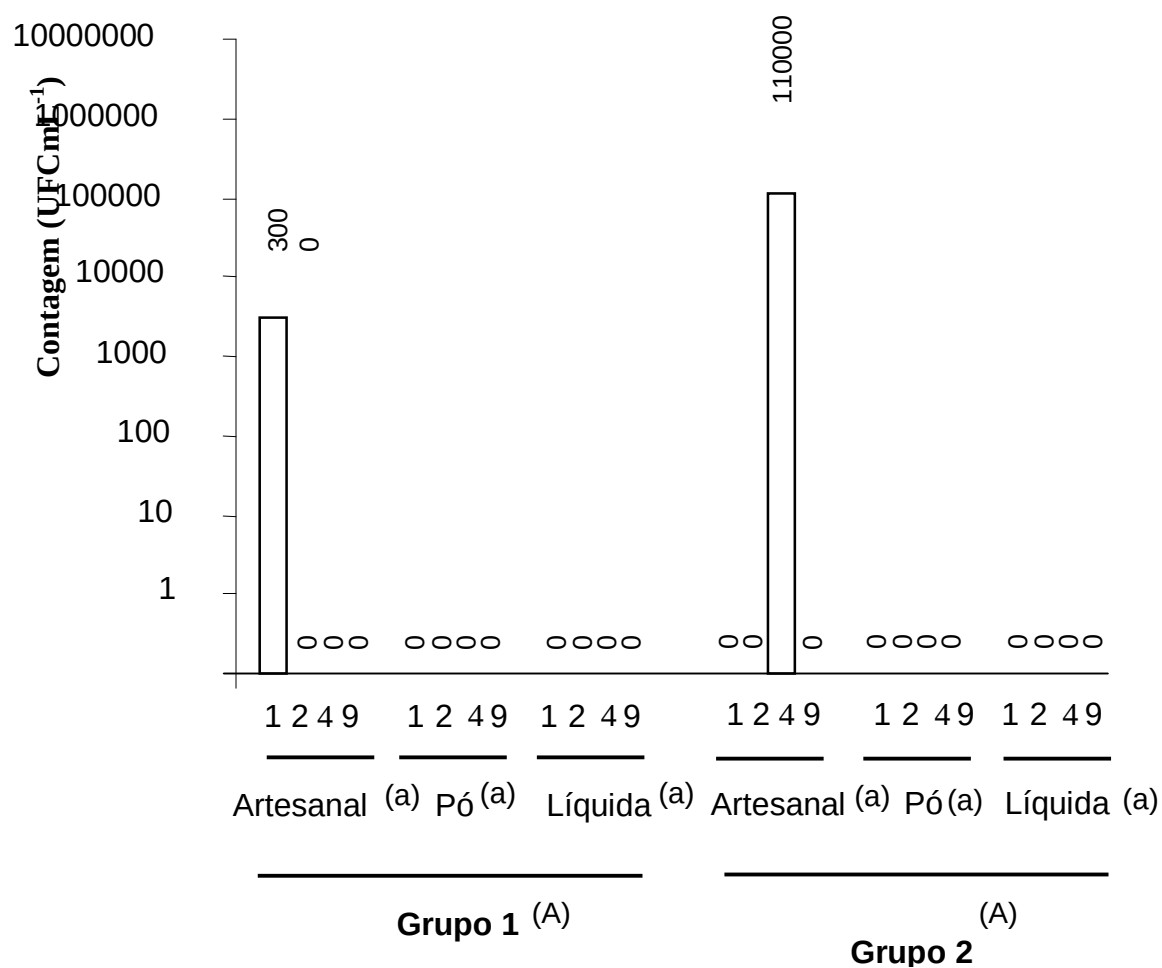


Figura 9: Resultados obtidos no segundo momento do estudo (Pós APPCC), referente à contagem de *Bacillus cereus* (UFC mL⁻¹) por grupos de trabalho (Grupos 1 e 2) e para as dietas artesanais, em pó e líquidas quando armazenadas em refrigeração por 1, 2, 4 e 9 horas após o preparo (Padrão: 1×10^3 UFC mL⁻¹ - ANVISA RDC nº 63).

Análise estatística pelo teste Mann-Whitney revelou:

(a ≠ b): ($p < 0,05$) dentro de cada grupo.

(A=A): ($p > 0,05$) semelhança entre os grupos.

4.3 Dietas armazenadas sob refrigeração por 18 horas

As quatro dietas líquidas armazenadas sob refrigeração por 18 horas após o preparo, tanto antes quanto após a implementação do sistema APPCC, permaneceram livres de contaminação por qualquer microrganismo pesquisado.

4.4 Identificação dos pontos críticos de controle

As análises microbiológicas nos pontos críticos de controle antes da implementação do sistema APPCC, mostraram contaminação de bactérias mesófilas em liquidificadores e superfície das latas para os dois grupos, sendo que a maior contaminação ocorreu nos liquidificadores e que a água fervida correspondente ao grupo 1 foi a única que foi positiva para coliformes totais e fecais (Tabela 1).

As análises microbiológicas nos pontos críticos de controle após a implementação do sistema APPCC, mostrou que houve uma melhoria no nível de contaminação dos liquidificadores, após a introdução do sistema APPCC, mas a contagem bacteriana ainda permaneceu elevada, ao contrário da água utilizada no preparo das dietas (Tabela 2).

Antes da implementação do sistema APPCC os manipuladores de alimentos do grupo 1 eram portadores de *Staphylococcus aureus* nas narinas (100%) e nas mãos (50%), enquanto que após a implementação do sistema APPCC ele foi identificado em 60% e 20% das narinas e mãos dos profissionais respectivamente. Entretanto, os manipuladores de alimentos do grupo 2 quando da pesquisa de *Staphylococcus aureus* nas mesmas condições a redução foi de 50% para 20% nas narinas e este não foi recuperado à partir das mãos (Tabela 3).

A Tabela 4 mostra que com a implementação sistema APPCC houve uma importante mudança no percentual de adequação das dietas em pó de acordo com o padrão da ANVISA, que passou de 50% antes e em torno de 100% após, enquanto que para as dietas artesanais houve uma mudança de 45% para 57% de adequação e as prontas para o uso permaneceram 100% adequadas nos dois momentos.

Tabela 3 - Colonização de mãos e narinas de manipuladores com *Staphylococcus aureus* pré e pós APPCC

	Pré APPCC* ¹		Pós APPCC* ²	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Narinas	2 (100)	1 (50)	3 (60)	1 (20)
Mãos	1 (50)	0 (0)	1 (20)	0 (0)

*¹ n = 2 Manipuladores para cada Grupo *² n = 5 Manipuladores para cada Grupo

Tabela 4 – Adequação das dietas enterais independente do grupo e tempo de estocagem, pré e pós APPCC de acordo com o padrão da ANVISA.

	Pré APPCC			Pós APPCC		
	Artesanal	Pó	Líquida	Artesanal	Pó	Líquida
Microrganismos	%	%	%	%	%	%
Bactérias mesófilas	12,5	37,5	100,0	12,5	100,0	100,0
Coliformes totais	37,5	50,0	100,0	0	100,0	100,0
Coliformes fecais	50,0	37,5	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	62,5	75,0	100,0	100,0	87,5	100,0
<i>Bacillus cereus</i>	62,5	75,0	100,0	75,0	100,0	100,0
Total	45,0^a	50,0^a	100,0^b	57,5^a	97,5^b	100,0^b

* Para cada microrganismo analisado n = 8 nos diferentes tipos de dieta e nos momentos pré e pós APPCC. Os microrganismos *Salmonella* spp, *Listeria* spp e *C. perfringens* também foram pesquisados, porém não foram considerados no cálculo de adequação por não terem sido encontrados).

a ≠ b – com nível significância ($P \leq 0.05$)

5. DISCUSSÃO

As definições de contaminação das dietas enterais são interpretadas de acordo com o limite de bactérias presentes de $\geq 10^2$ UFC mL⁻¹ e $\geq 10^4$ UFC mL⁻¹, segundo as recomendações da “*British Dietetic Association*” (1986) e “*Food and Drug Administration*” (FDA, 1995), respectivamente.

Os resultados deste estudo mostraram que antes da implementação do sistema APPCC as dietas em pó estavam tão contaminadas com bactérias mesófilas quanto as artesanais, 62,5% e 87,5% de inadequação, respectivamente. Porém após a implementação do sistema APPCC, a diferença entre as duas tornou-se significativa ($P \leq 0.05$), com uma variação entre 0% para as dietas em pó e 87,5 % na inadequação das artesanais. A contagem deste grupo de bactérias é empregada para indicar a qualidade sanitária do alimento, assim um número elevado de microrganismos indica que o alimento está insalubre. Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, e crescem à mesma temperatura do corpo humano, sendo que uma alta contagem indica a presença de condições favoráveis à multiplicação destes patógenos (FRANCO, LANDGRAF, 2002).

De forma semelhante, a inadequação das dietas em pó e artesanais considerando o grupo de coliformes totais, foi bastante elevada no primeiro momento do estudo, atingindo um índice de 62,5% para as artesanais 75% para as dietas em pó, enquanto que na fase pós-implementação do APPCC, as dietas artesanais apresentaram 100% de inadequação e as dietas em pó estavam 100% adequadas.

Fazem parte do grupo de coliformes totais, bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como hábitat primário o trato intestinal de homens e animais, os demais além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo. Conseqüentemente, a presença de coliformes fecais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou presença de enteropatógenos.

As bactérias pertencentes ao grupo de coliformes fecais correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás, quando incubadas à temperatura entre 44-45,5°C. A pesquisa destes microrganismos em alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto e uma melhor

indicação sobre a eventual presença de enteropatógenos. Este grupo inclui patógenos bem estabelecidos tais como *Salmonella* spp., patógenos de significado global emergentes, como *E. coli* e patógenos oportunistas tais como espécies de *Klebsiella* e *Citrobacter* (OLIVEIRA, 2000). A contaminação das dietas por coliformes fecais, no primeiro momento do estudo, apresentou-se entre 50% e 62,5% para as dietas artesanais e pó, respectivamente, mostrando uma situação de risco para os pacientes. Após a implementação deste sistema, não foi mais detectado coliformes fecais em nenhuma dieta analisada, revelando que houve um grande impacto na melhoria da qualidade higiênico-sanitária.

A análise de *Staphylococcus aureus*, mostrou que antes da implementação do sistema APPCC, foram observadas contagens maiores do que o padrão em 37,5% das dietas artesanais e 25,0% das dietas em pó, além disso, foram mais elevadas para o grupo 1, as maiores contagens neste grupo podem ser devidas à percentagem de manipuladores portadores desse microrganismo nas narinas e mãos, 100% e 50% respectivamente, enquanto que no grupo 2 metade dos manipuladores apresentaram os microrganismos nas narinas e não foi detectado nas mãos de nenhum manipulador. Foi observado durante a coleta de amostras que eles tinham o hábito de tocar as mascaras repetidas vezes com as mãos, atitude que facilita a contaminação cruzada. Esse microrganismo causa intoxicação provocada pela ingestão de alimento contendo toxinas pré-formadas, portanto o agente causal não é a bactéria *per se*, mas as toxinas por ele produzidas quando este se encontra entre 10-46°C. Estas quando presentes no alimento ingerido possuem ação emética e diarreica no indivíduo, podendo debilitar ainda mais aqueles que já se apresentam doentes. Após a implementação do sistema APPCC este microrganismo mostrou-se em quantidade inadequada apenas para uma dieta em pó e em quantidades bem inferiores às anteriormente apresentadas.

Bacillus cereus é um microrganismo esporulado amplamente distribuído na natureza, sendo o solo seu reservatório natural. No Brasil é freqüentemente isolado de farinhas, amidos e leite em pó (FRANCO, LANDGRAF, 2002). Os esporos germinam quando a temperatura é favorável, entre 28°C e 35°C, ocorrendo multiplicação rápida das células vegetativas e produção de toxinas responsáveis por duas formas distintas de gastroenterite, a síndrome diarreica e a síndrome emética (FRANCO, LANDGRAF, 2002). Essa bactéria esteve presente em contagens elevadas em 37,5% das dietas em pó e 25% das dietas artesanais

anterior à implementação do sistema APPCC, mostrando que os indivíduos que receberam estas dietas podem ter sofrido conseqüências decorrentes anteriormente citadas desta contaminação. Após implementação, apenas as dietas artesanais apresentaram-se inadequadas, sendo o mesmo percentual de inadequação anterior (25%), porém em contagens menores.

Freedland *et al.* (1989) relataram uma taxa de 30% a 90% de contaminação em sistemas de alimentação enteral. Onze anos após Kessler *et al.* (2000) investigaram 112 dietas enterais em pó homogeneizadas em liquidificador em um hospital universitário do Rio de Janeiro, encontrando em 100% das dietas contagens de bactérias mesófilas fecais $\geq 10^3$ UFC ml⁻¹ e coliformes totais e fecais acima de 3 UFC ml⁻¹, mais de 20% com *Bacillus cereus* acima de 10^3 UFC ml⁻¹ e mais de 10% das dietas apresentaram *S. aureus* entre 10^2 e 10^3 UFC ml⁻¹.

Além dos microrganismos anteriormente citados, a ANVISA (BRASIL, 2000) exige que sejam realizadas análises representativas do total de dietas preparadas para *Salmonella* spp, *C. perfringens* e *Listeria* spp. Porém nenhum destes foi detectado nas dietas analisadas, além disso, estudos realizados até o presente momento, não têm identificado freqüentemente estes microrganismos em dietas enterais.

A análise estatística das contagens dos microrganismos após a manutenção das dietas sob refrigeração nos diversos tempos mostrou que a variação no tempo de refrigeração não teve grandes influências na contagem bacteriana das dietas que ficaram refrigeradas a 4°C por até 18 h, sendo que estes achados confirmam pesquisas realizadas em hospitais brasileiros (COSTA *et al.*, 1998; FREEDLAND *et al.*, 1989). Entretanto, Carvalho *et al.* (1999) relataram diferenças após 24 h de estocagem, atribuídas a oscilações de temperatura de refrigeração.

A conseqüência da contaminação de dietas enterais é o risco de agravamento do quadro clínico dos pacientes hospitalizados, uma vez que estes já se encontram debilitados, sendo usualmente mais susceptíveis aos microrganismos, principalmente quando estes recebem dietas por sonda, escapando de defesas naturais do organismo, como o pH gástrico. Uma pequena quantidade de patógenos entéricos pode ser inócuo para a maioria das pessoas hígdas, mas pode causar diarreia e até mesmo a morte em pacientes imunocomprometidos (SENAC/DN, 2004). Esta contaminação pode contribuir com resultados indesejáveis,

complicações tais como vômitos, distensão abdominal, diarreia, colonização do trato gastrointestinal, infecção e sepse têm sido relacionadas com aumento do tempo de permanência hospitalar e taxa de mortalidade (Costa *et al*, 1998).

O elevado índice de contaminação das dietas em pó e artesanais pode ser explicado pela maior manipulação destas dietas durante o preparo. Carvalho (1998) investigou os pontos críticos de controle para a contaminação bacteriana e relatou diferenças nas contaminações entre dietas mais manipuladas, em pó e artesanais, e dietas líquidas, concluindo que o grau de manipulação de uma dieta está em proporção direta ao risco de contaminação da mesma.

No presente estudo, o liquidificador mostrou elevada contaminação nos dois grupos de manipuladores e nos dois momentos (pré e pós-implementação do APPCC), sendo portanto, o principal ponto crítico de controle no preparo das dietas artesanais e em pó. Vários pesquisadores verificaram a influência desse equipamento na contaminação de dietas enterais liquidificadas (OLIVEIRA *et al*, 2000; KESSLER *et al*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2000; THURN *et al.*1990). Oliveira *et al.* (2000) e Bergami (2002), mesmo após implementação de APPCC e das Boas Práticas de Manipulação, respectivamente, relataram contaminação significativa das dietas relacionadas ao uso deste equipamento. Além disso, como ele não foi usado no preparo de dietas em pó na fase pós-implementação do APPCC, a melhoria da adequação destas dietas pode estar relacionada com a ausência deste equipamento.

Mathus-Vliegen *et al.* (2000) e Anderton (1986) recomendam que em pacientes críticos a dietas enterais devam ser estéreis devido ao risco representado pelas complicações infecciosas. Porém, no Brasil, onde os recursos são limitados na maioria dos hospitais, tanto as fórmulas artesanais quanto as em pó são freqüentemente preparadas por apresentarem menor custo de aquisição (MITNE *et al.*, 2001). Segundo Roy *et al.* (2005), as fórmulas em pó devem ser usadas somente quando não há alternativas, porém, as dietas prontas para o uso além de serem mais caras, possuem algumas limitações como: não permitem adições para modulação e individualização nutrição enteral; não permitem controle adequado de volume infundido quando este for pequeno; não previnem totalmente a contaminação através do contato.

Foi observado neste estudo a melhora nos procedimentos de higiene pessoal incluindo a das mãos, principalmente para os manipuladores grupo 1, visto

que antes da implementação do sistema APPCC as amostras de água fervida mostraram a presença de coliformes fecais e totais, e verificou-se a presença de *Staphylococcus aureus* nas narinas e nas mãos de um dos manipuladores de alimentos deste grupo. Estes achados certamente contribuíram para as contagens bacterianas no primeiro momento do estudo, e após a implantação do sistema APPCC, provavelmente por interferência dos treinamentos realizados, os dois grupos mostraram-se homogêneos. Segundo Anderton (1995) a infecção cruzada em hospitais ocorre principalmente via mãos e a conscientização sobre a importância da higienização de mãos é a forma mais efetiva de preveni-la.

A superfície das latas de dietas mostrou um nível menor na contagem bacteriana, mas é importante assinalar que quando da transferência de dieta da lata para o frasco de infusão, pode ocorrer contaminação se ela não for adequadamente higienizada e desinfetada.

Oliveira *et al.* (2000) analisaram 15 dietas em pó reconstituídas e todas apresentaram contaminação por bactérias mesófilas (entre 10^3 e 10^5 UFC ml⁻¹) e coliformes totais (entre 10^2 e 10^3 UFC ml⁻¹) antes da implementação do APPCC. Eles relataram uma melhoria significativa após a implementação deste sistema com contagens menores que 10^1 UFC ml⁻¹, mostrando que a contaminação da dieta pode ser reduzida ou eliminada se uma ferramenta sistemática como APPCC é aplicada. O nosso estudo mostrou resultados semelhantes, com melhoria na qualidade das dietas em pó após a implementação do sistema APPCC, em torno de 50% destas dietas eram adequadas e passaram para 97% de adequação com diferença significativa ($p < 0,05$), enquanto que as dietas artesanais passaram de 45% para 57% de adequação sem diferença significativa.

6. Conclusões

- § A contaminação das dietas enterais pode ser reduzida, e as dietas em pó são menos caras e podem ser disponibilizadas com qualidade microbiológica similar às dietas prontas para o uso, se princípios do sistema APPCC são estabelecidos, e se for disponibilizada uma área física adequada sem cruzamento de fluxos entre as diversas atividades de preparo;
- § Análises microbiológicas das dietas artesanais devem ser realizadas com maior frequência, que as industrializadas, principalmente para os seguintes microrganismos: bactérias mesófilas, coliformes fecais e totais, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*;
- § A higienização e a desinfecção do liquidificador é um importante ponto crítico de controle no preparo de dietas enterais, deve ser estabelecido um padrão microbiológico para equipamentos de preparo de nutrição enteral, condizente com as realidades de um país tropical como o nosso;
- § O estabelecimento de procedimentos operacionais de higiene, fluxogramas de preparo, e o treinamento de manipuladores, interfere positivamente na redução da contaminação das dietas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH OF WATER AND WASTEWATER. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 16. ed. Washington: American Public Health Association, 1985. 1268 p.
2. ANDERTON, A.; HOWARD, J. P.; SCOTT, D. W. Microbiological control in enteral feeding. Summary of a guidance document prepared on behalf of the Committee of the Parenteral and Enteral Nutrition Group of the British Dietetic Association. **Human Nutrition. Applied Nutrition**, London, v. 40A, p. 163-167, 1986.
3. ANDERTON, A. Reducing bacterial contamination in enteral tube feeds. **British Journal Nursing**, London, v. 4, p. 368-376, 1995.
4. ANDERTON, A. Bacterial contamination of enteral feeds and feeding system. **Clinical Nutrition**, Edimburg, v. 12, p.16, 1993. Supplement 2.
5. ARIAS, M. L.; MONGE, R.; CHÁVEZ, C. Microbiological contamination of enteral feeding solutions used in Costa Rican hospitals. **Archives Latinoamericanas de Nutricion**, Caracas, v.53, n.3, p. 277-281, 2003.
6. BEATTIE, T. J.; ANDERTON, A. Bacterial contamination of enteral feeding systems due to faulty handling procedures – a comparison of new system with two established systems. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v. 11, n. 4, p.313, Aug, 1998.
7. BELKNAP, D. C.; DAVIDSON, L. J.; FLOURNOY, D. J. Microorganisms and diarrhoea in enterally fed intensive care unit patients. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v.14, p. 622-628, 1990.
8. BERG, R. D. The indigenous gastrointestinal microflora. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 4, n.11, p. 430-435, 1996.
9. BERGAMI, A. **Esterilização em óxido de etileno: um novo conceito no controle microbiológico de dietas enterais e fórmulas lácteas**. Disponível em: <<http://www.nutricaoclinica.com.br>>. Acesso em: 17 abr. 2005.
10. BOWLING, T. E. Colonic responses to enteral tube feeding. **Gut.**, London, v. 42, p.147-151, 1998.

11. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): **Resolução RDC 63 de 06/07/2000, Regulamento Técnico para Terapia de Nutrição Enteral**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 03 out. 2003.
12. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): **Resolução nº 12 de 02/01/2002. Estabelece os padrões microbiológicos sanitários para os alimentos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 03 out. 2003.
13. CARVALHO, M. L. R. **Avaliação da qualidade microbiológica de dietas enterais: Pontos críticos no controle no processamento das formulações**, 1998. 120f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1998.
14. CARVALHO, M. L. R. Pontos críticos no controle da manipulação de dietas enterais no município de São Paulo, **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v.14, p.135-144, 1999.
15. CARVALHO, M. L. R.; MORAIS, T. B.; AMARAL, D. F. Hazard analysis and critical control Point system approach in the evaluation of environmental and procedural sources of contamination of enteral feedings in three hospitals. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v. 24, n. 5, p.296-303, 2000.
16. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Guidelines for the application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System**, v.1, section 7.5, 1993, Supplement 1:96.
17. CORREIA, M. I. T. D.; CAIAFFA, W. T.; WAITZBERG, D. L. Inquérito Brasileiro de Avaliação Nutricional Hospitalar (IBRANUTRI): Metodologia do estudo multicêntrico. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v.13, n. 1, p.30, 1998.
18. CORREIA, M. I. T.D.; NOVAIS, J. A. V.; CASSIANO, M. C. Controle de infecção na terapia Nutricional enteral e parenteral. In: OLIVEIRA, A. C. **Infecções hospitalares – Epidemiologia, prevenção e controle**. São Paulo: Medsi, 2005. p.562 – 573.
19. COSTA, G. P.; SILVA, M. L. T.; FERRINI, M. T.; BOTTONI, A.; MOREIRA-JÚNIOR, J. C.; CUOPPINI, L. Z.; AANHOLT, D. V.; BORGES, V. C.; CIOSAK, S.; WAITZBERG, B. L. Estudo comparativo da contaminação microbiana de

dietas enterais em sistema aberto e fechado. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v.13, p. 180 -188, 1998.

20. DUNCAN, H.E.; EDBERG, S.C. Host-microbe interaction in the gastrointestinal tract. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v. 21, n. 2, p. 85-100. 1995.
21. FERREIRA, T. R. A. S.; SANTOS, J. S.; SOARES, R. D. L. Serviço de nutrição hospitalar. In: MARTINS, M. A. **Manual de infecção hospitalar**. 2 ed. Rio de Janeiro 2001, p. 751 – 762.
22. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION: **Compliance program guidance manual**. Whashington, DC, 1995. chapter 21, Programme 7321.002. p. 3.
23. FRANCO, B. D. G. M; LANGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002, 182 p.
24. FREEDLAND, C. P.; ROLLER, R. D.; WOLF B .M.; FLYNN, N. M. Microbial contamination of continuous drip feedings. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v.13, p. 18-22, 1989.
25. GARZON, E.A.O. **Avaliação das soluções artesanais e comerciais de nutrição enteral como fonte de infecções hospitalares em pacientes internados na unidade de terapia intensiva do hospital universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro**, 1993. 79f. Dissertação (Mestrado do Instituto de Microbiologia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1993.
26. HUNSKINS, W.C.; O'ROURKE, E.J.; RHINEHART, E.; GOLDMANN, D.A. Infection control in countries with limited resources. In: MAYHALL, C. G. **Hospital epidemiology and infection control**. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Willians & Wilkins, 2004. p. 1889 – 1912.
27. HUNTER, P. R. Application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) to the handling of expressed breast milk on a neonatal unit. **Journal of Hospital Infection**, New York, v.17, p. 139-146, feb. 1991.
28. KESSLER, F. P.; CARDOSO, V.A.; SANTOS, A.B.; WADY, M.T.P.; FARAGE, S.; TORTORA, J.C.O. Avaliação microbiológica de dietas enterais artesanais utilizadas no Hospital Universitário Antônio Pedro. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v.15, n. 4, p.426-435, 2000.

29. LEVY, J.; VAN, L.Y.; VERHAEGAN, G.; *et al.* Contaminated Enteral Nutrition Solutions as a Cause of Nosocomial Bloodstream Infection: A Study Using Plasmid Fingerprinting. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore v. 13, p. 228-34, 1989.

30. MACHADO, G. P. M. aspectos epidemiológicos das infecções hospitalares. In: MARTINS, M. A. **Manual de infecção hospitalar**. 2 ed. Rio de Janeiro 2001, p. 27 – 31.

31. MATHUS-VLIEGEN, L. M. H.; BINNEKADE, J. M.; DE HAAN, R. J. Bacterial contamination of ready-to-use 1-L feeding bottles and administration sets in severely compromised intensive care patients. **Critical Care Medicine**, New York, v.28, p. 67-73, 2000.

32. MITNE, C.; SIMÕES, A. M. G.; WAKAMOTO, D.; DE LIORI, G. P.; SULLIVAN, M.; COMER, G. M. Análise de dietas enterais artesanais. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo. v.16, n. 3, p. 100-109, 2001.

33. NAVAJAS, M. F. C.; CHACON, D. J.; SOLVAS, J. F. G.; VARGAS, R.G. Bacterial contamination of enteral feeds as a possible risk of nosocomial infection. **Journal of Hospital Infection**, New York, v. 21, n. 2, p. 11-120, may. 1992.

34. OKUMA, T.; NAKAMURA, M.; TOTAKE, H.; FUKUNAGA, Y. Microbial contamination of enteral feeding formulas and diarrhoea. **Nutrition**, Burbank, v.16, n. 9, p. 719-722, sep. 2000.

35. OLIVEIRA, M. H.; BATISTA, C. R. V.; AIDOO, K. E. Application of Hazard Analysis and Critical Control Points system to enteral tube feeding in hospital. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v.14, n. 5, p. 397-403, Oct. 2001.

36. OLIVEIRA, M. H.; BONELLI, R.; AIDOO, K. E.; BATISTA, C. R.V. Microbiological quality of reconstituted enteral formulations used in hospitals. **Nutrition**, Burbank, v.16, n. 9, p. 729-733, sep. 2000.

37. PANNUTI, C. S.; GRINBAUM, R. S. An overview of nosocomial infection control in Brazil. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, Thorofare, v. 16, p. 170-174, mar. 1995.

38. PATCHELL, C. J.; ANDERTON, A.; HOLDEN, C.; MCDONALD, A.; GEORGE, R. H; BOOTH, I. W. Reducing bacterial contamination of enteral feeds. **Archives of Disease Childhood**, London, v.78, p.166-168, 1998.
39. PEDRUZZI, M. M. B. Imunologia da mucosa intestinal – Uma nova abordagem funcional e terapêutica do trato gastrointestinal. **Revista Nutrição em Pauta**, São Paulo, Nov/Dez. 2002.
40. PITTET, D.; WENZEL, R. P. Nosocomial bloodstream infections. **Archives Internal of Medicine**, Chicago, v. 155, p. 1.177-1.184, Jun. 1995.
41. PRADE, S. S. Estudo brasileiro da magnitude das infecções hospitalares em hospitais terciários. **Revista de Controle de Infecção Hospitalar**, São Paulo, v. 2, p 1-23. 1995.
42. RÉGLIER-POUPET, H.; PARAIN, C.; BEAUVAIS, R.; DESCAMPS, P.; GILLET, H.; LE PERON, J. Y.; BERCHE, P.; FERRONI, A. Evaluation of the quality of hospital food from the Kitchen to the patient. **Journal of Hospital Infection**, New York, v. 59, n. 3, p.131-137, mar. 2005.
43. ROY, S.; RIGAL, M.; DOIT, C.; FONTAN, J. E.; MACHINOT, S.; DINGEN, E.; CEZARD, J. P.; BRION, S.; HANKARD, R. Bacterial contamination of enteral nutrition in a paediatric hospital. **Journal of Hospital Infection**, New York, v.59, n. 4, p. 311-316, apr. 2005.
44. SANTOS, M. I. S.; TONDO, E. C. Determinação de perigos e pontos críticos de controle para implantação de sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle em lactário. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 211-222, set./dez. 2000.
45. SENAC/DN. **Boas Práticas e Sistema APPCC em nutrição hospitalar**. SENAC/DN, Rio de Janeiro, 2004. 161p.
46. SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica, para as ciências do comportamento**. Tradução: Alfredo Alves de Farias São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1975, 350 p.
47. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

48. THURN, J.; CROSSLEY, K.; GERDTS, A.; JOHNSON, J. Enteral hyperalimentation as a source of nosocomial infection. **Journal of Hospital Infection**, New York v.15, n. 3, p. 203-217, apr. 1990.
49. TRABULSI, L.R. Os probióticos e a saúde infantil. **Temas de Pediatria da Nestlé**, p. 6-9, 2000. Número especial.
50. VANDERZANTE, C; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed., Washington: American Public Health Association, 1992, 1208 p.
51. VICENT, J. L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. **Lancet**, London, v. 361, n. 9374, p. 2068-2075, Jun. 2003.
52. WAITZBERG, D.L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed., São Paulo: Atheneu, 2001, 1858 p.
53. WEY, S.B. Infection control in a country with annual inflation of 3,600%. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, Thorofare, v. 16, p 175-178. 1995.

8. ANEXO I

9. ANEXO II