

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



BLH101:P&CQ LHO I - Fundamentos Teóricos

Tema 12

Banco de Leite Humano: Controle de Qualidade Microbiológico

Tema 12: BLH: Controle de Qualidade Microbiológico

Controle de Qualidade Microbiológico do Leite Humano Ordenhado



Objetivo Geral – Apresentar a metodologia de análise para controle de qualidade microbiológico dos produtos

Tema 12: Banco de Leite Humano: Controle de Qualidade Microbiológico

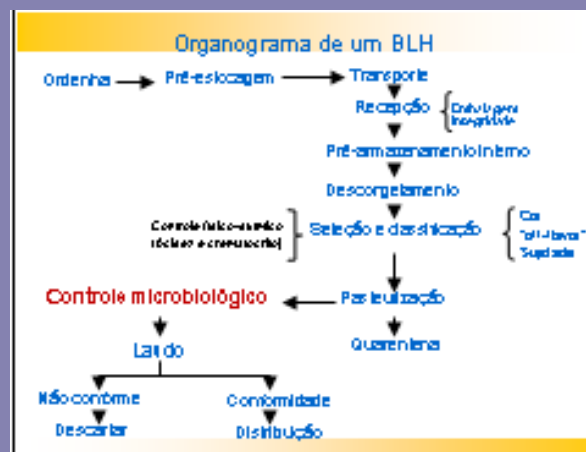

Ementa - Objetivos específicos

Apresentar a fundamentação teórica das análises de controle de qualidade microbiológico

Controle de Qualidade Microbiológico

Como eleger um indicador sanitário?

- ✓ Deve ter correlação direta com a validade do produto;
- ✓ Deve ser de fácil detecção;
- ✓ A análise não deve ser feita em curto espaço de tempo;
- ✓ Deve ser simples e de fácil execução;
- ✓ Deve ser mais barato e rápido, minimizando falhas humanas.



Tema 12: Banco de Leite Humano: Controle de Qualidade Microbiológico

Ementa - Objetivos específicos

Apresentar o passo-a-passo das análises de controle de qualidade microbiológico

Caldo Biliis Verde Brilhante

- ✓ O fabricante informa que devemos suspender 40g/L de água destilada ou deionizada
- ✓ Distribuir 10 mL em tubo de ensaio;
- ✓ Colocar o tubo de Durhan invertido;
- ✓ Autoclavar: 121°C/15min.
- ✓ Inocular 1 mL de leite para analisar

Caldo Biliis Verde Brilhante (BGBL)

- ✓ Para inocular 4 mL:
- ✓ Considerar que 40g/L = 4g/100 ml ou 0,4g/10 mL;
- ✓ Produto 10mL + 1mL = 11 mL;
- ✓ Então teremos: 0,4 g de BGBL em 11 mL

Em 14 mL gr


$$x = 14 \times 0,4/11 = 0,5g/10 \text{ mL}; 5g/100 \text{ mL} \text{ o } 50g/L.$$

Coliformes: Método alternativo

- ✓ Para inocular 4 alíquotas de 1 mL usar pipetas de 1,0 mL em BGBL 50 g/L, com tubos de Durhan.

Comentário:

- ✓ As 4 alíquotas devem ser pipetadas independentemente após agitação.




Coliformes: Método alternativo

- ✓ 2 - Incubar os tubos a 36 ± 1°C por 24 e 48 h.
- ✓ 3 - A presença de gás no tubo de Durhan caracteriza resultado **positivo**.
- ✓ 4 - Os resultados positivos devem ser confirmados em BGBL (40g/L).

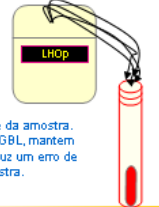
Prova presuntiva

4 partes alíquotas de 1 mL cada, pipetadas em pontos diferente do frasco




Incubar a 36 ± 1°C por 24-48 horas

Comentário importante

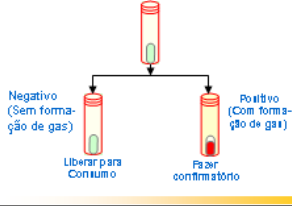


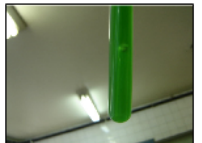
Não reduzir o volume da amostra. 1mL em 2,5 mL de BGBL, mantem a proporção, mas produz um erro de 75% na amostra.

Leitura após 24 horas



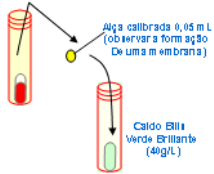
Leitura após 48 horas



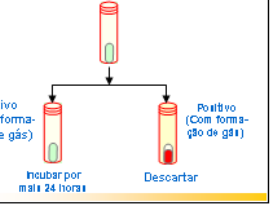


Prova confirmatória

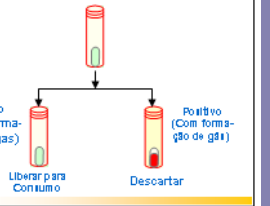
Alça calibrada 0,10 mL (observar a formação de uma membrana)



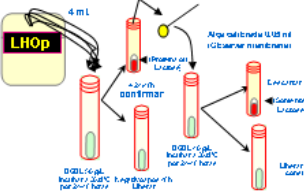
Leitura após 24 horas

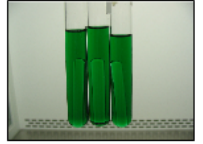


Leitura após 48 horas



Resumo da técnica de análise microbiológica





Resultados da prova presuntiva

Leitura	Resultado	Interpretação
Após 24 h	Gas +	Fazer confirmatório
Após 24 h	Gas -	Incubar por mais 24h
Após 48 h	Gas +	fazer confirmatório
Após 48 h	Gas -	Liberar para consumo

Resultados da prova confirmatória


Leitura	Resultado	Interpretação
Após 24 h	Gas +	Coliformes +
Após 24 h	Gas -	Incubar por mais 24h
Após 48 h	Gas +	Coliformes +
Após 48 h	Gas -	Liberar para consumo

Teste presuntivo

Caldo verde brilhante (BGBL a 5%)

Preparação


- ✓ Pesas 50 g/L
- ✓ Distribuir 10 mL/tubo
- ✓ Retornar a tampa ¼ de volta para penetração do vapor
- ✓ Prova de esterilidade: incubar todos os tubos por 24 h a 36 ± 1°C.



Autoclavagem

Utilizar fita de autoclavagem para controle do aquecimento diariamente e indicador biológico pelo menos uma vez por semana em diversos pontos do compartimento da autoclave.

Para evitar formação de bolhas e derramamento do meio de cultura, aguardar que a pressão fique igual a zero (resfriar completamente)

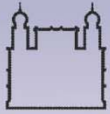


Controle de qualidade do BGBL

- ✓ Esterilizar os tubos a 121°C por 15 minutos.
- ✓ Observar se existem bolhas de gás.
- ✓ Colocar todos os tubos em estante e incubar 36 ± 1°C por 24 horas.
- ✓ Observar crescimento e/ou formação de gás, descartar os tubos e verificar onde ocorreu o problema.
- ✓ Os tubos podem ser estocados em refrigerador por até 15 dias ou a temperatura ambiente por até 7 dias.

Laudo de Análise

- ✓ Nome da Instituição e suas subordinações;
- ✓ Identificação das amostras;
- ✓ Análises realizadas;
- ✓ Método de análise;
- ✓ Resultados obtidos;
- ✓ Valores de referência.
- ✓ Local e data
- ✓ Assinatura do responsável técnico.



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



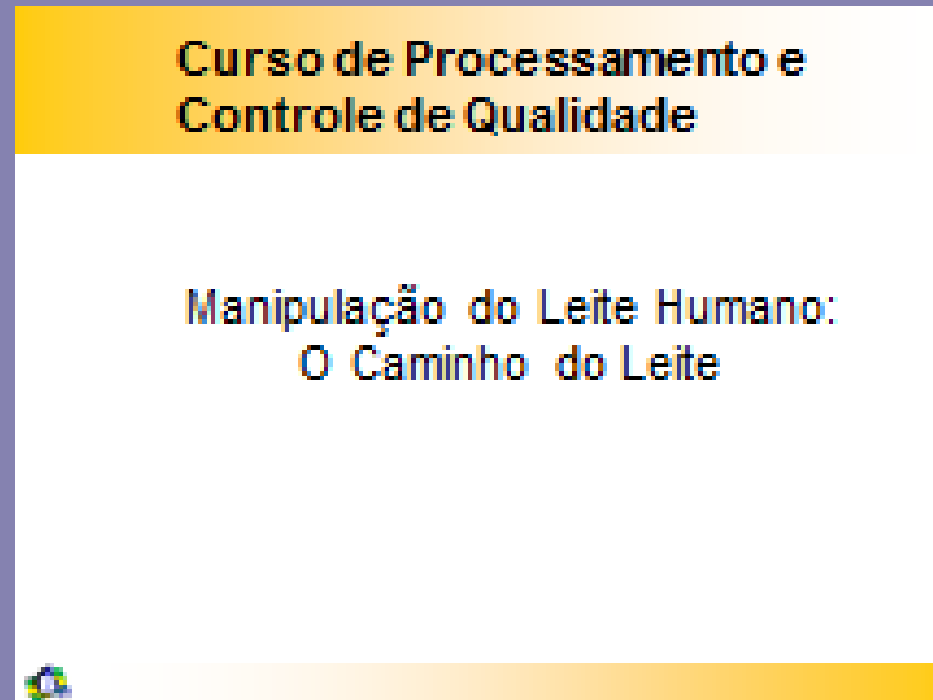
BLH101:P&CQ LHO I - Fundamentos Teóricos

Tema 13

Manipulação do Leite Humano

Ordenhado - O Caminho do Leite

Tema 13: Manipulação do LHO - O Caminho do leite



Objetivo Geral – Apresentar a metodologia de análise para controle de qualidade microbiológico dos produtos

Tema 13: Manipulação do LHO - Caminho do Leite

Ementa - Objetivos específicos

Apresentar este tema “teórico-prático” iniciando pela definição de BLH e suas atividades

Portaria Federal MS 322 (26/05/1988)
Resolução RDC nº 171 (04/07/2006)


Centros especializados na promoção, proteção e apoio ao Aleitamento Materno

Centros especializados, que auxiliam a que um maior número de lactantes tenham acesso aos múltiplos benefícios do leite materno para a saúde.



Processamento e Controle de Qualidade
A qualidade começa pela organização



1. Ambiente



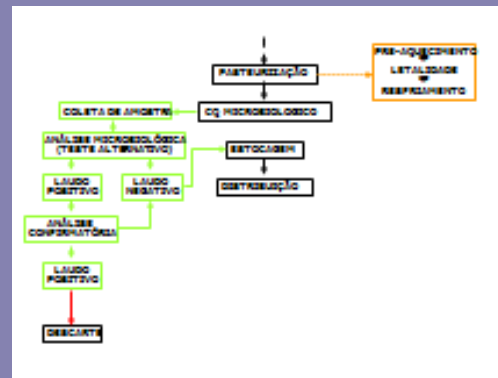
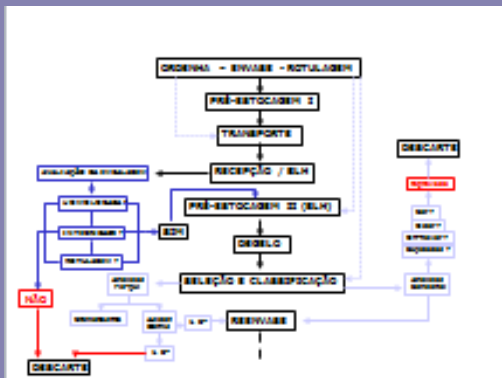
- a. Organização;
- b. Limpeza;
- c. EPI's

Processamento e Controle de Qualidade
A qualidade começa pela organização

2. Equipe



- a. Higiene – lavagem das mãos;
- b. Paramentação



Tema 13: Manipulação do LHO - Caminho do Leite

Ementa - Objetivos específicos

Apresentar o processo de controle de qualidade microbiológico, armazenagem e distribuição– definindo tais processos segundo a RDC nº171 e aproveitando para fixar tais conceitos

Controle de Qualidade Microbiológico

Teste simplificado para detecção de Coliformes Totais

O controle de qualidade microbiológico do leite humano ordenhado praticado pela RedeLH segue a lógica preconizada para alimentos, que inclui a utilização de microrganismos indicadores de qualidade sanitária. O grupo coliforme tem ocupado lugar de destaque, por ser de cultivo simples, economicamente viável e seguro, minimizando a possibilidade de resultados falso-positivos.

Após a pasteurização, coletar 4 alíquotas de 1ml de amostra, que deverão ser coletadas em pontos diferentes do frasco.

Semear todas alíquotas de uma mesma amostra em um único tubo de cultura contendo RGGI, concentrado. O procedimento deverá ser conduzido com rigor microbiológico, utilizando ambiente asséptico, ou campo de chama durante todo o procedimento.

Temperar os tubos contendo o leite como meio de cultura e incubá-los a 36 ± 1°C durante 24 a 48 horas, em escuro.

Controle de Qualidade Microbiológico

Teste simplificado para detecção de Coliformes Totais









Armazenamento


Congelamento e Armazenagem

O produto fluido só deverá ser levado ao freezer após ser devidamente resfriado a uma temperatura de 2°C ou menos.

Sempre que possível, utilizar um equipamento para congelamento e outro para estocagem.

A maioria dos equipamentos dispõe de uma maior área de troca térmica na primeira prateleira, permitindo maior circulação do gás refrigerante. Por essa razão, consegue-se melhor performance de congelamento nessa parte do equipamento.

Os frascos devem estar devidamente rotulados (codificados e com prazo de validade).



Relatório de Fluxo Recomendado para Entrega

Entregado: _____
 DP de Junho 2016

Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)
Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)
Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)	Fluxo de Leite (Litros)

Distribuição de LHO Pasteurizado

Condições específicas

Somente poderão ser distribuídos pelo Banco de Leite aqueles produtores que tenham sido submetidos ao correto processamento e controle adequado de qualidade.

A distribuição do leite humano em, nos casos em que o receptor for o feto da doadora, constitui caso de exceção. As medidas referentes ao manual e transporte do produto deverão ser observadas e o consumo terá que ser imediatamente após a coleta.

O fracionamento dos produtos destinados ao consumo deve observar as exigências para acondicionamento:

O leite humano pasteurizado deve estar estocado, sob congelamento, a uma temperatura inferior a -10°C por até 6 meses.

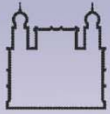
O descongelamento para distribuição poderá ser feito em microondas ou banho-maria, de acordo com as curvas de aquecimento, obedecendo à razão volume x tempo.

LEITE HUMANO PASTEURIZADO - RESERVA PELA BANCADA DE LEITE (LHAB)

Introdução: _____
 Nome do receptor: _____
 Número Total em: _____

Nº de Frascos (Litros)	Volume em Litros	Volume em Litros	Volume em Litros	Volume em Litros	Volume em Litros

Data de entrega: _____
 (assinatura) _____
 Responsável pela distribuição do Leite de Leite
 Recebido em: _____



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



BLH101:P&CQ LHO I - Fundamentos Teóricos

Tema 14

Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Tema 14: Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

BANCO DE LEITE HUMANO:

Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Objetivo Geral – Apresentar o sistema de controle de qualidade e ferramentas de gestão utilizadas nos bancos de leite humano

Tema 14: Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Ementa - Objetivos específicos



Conceituar qualidade na perspectiva dos produtos e processo de BLH



Controle de Qualidade Dinâmico

"A perfeição não deve ser um ato, mas um hábito"

(Aristóteles, 350 a.C.)



QUALIDADE I -

relacionada a uma ou mais características associadas a percepção visual e a funcionabilidade que o produto ou serviço deveria apresentar, tais como: *confiabilidade, durabilidade, estética, funcionabilidade e conformidade*. A inspeção era realizada em 100% do que era produzido

QUALIDADE II -

Inicia-se a Inspeção formal e a preocupação com planejamento, custos, produção, manutenção e disposição. Qualidade passa a ser mais do que atender as necessidades do cliente

↓

Evolução do termo qualidade acompanha as transformações econômicas, políticas e sociais

QUALIDADE

Se define a grandeza pela avaliação conjunta dos parâmetros examinados separadamente

- Microbiológicas
- Nutricionais
- Físicas
- Químicas
- "Fisiológicas"
- Imunológicas

Tema 14: Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Ementa - Objetivos específicos

Definir os indicadores de qualidade de produto e processo

Indicadores de Qualidade em Bancos de Leite Humano

Indicadores... Definição

- ✓ Representam informações quanti e qualitativas;
- ✓ Medem e avaliam o comportamento de diferentes aspectos do objeto (processo, produto...);
- ✓ Definidos quanto a diferentes objetivos;
- ✓ Subsídium tomadas de decisões – sistema de informação

Utilização de Indicadores

Para Visibilidade

- ✓ diagnóstico inicial
- ✓ comparação com dados médios do setor

Para Controle

- ✓ controlar processos a partir do momento em que a empresa conseguir definir padrões de desempenho para os mesmos
- ✓ comparação com padrões adotados, tais como as médias e os limites superior e inferior
- ✓ estabelecer metas

Indicadores da Qualidade em Bancos de Leite Humano

Indicadores de Produto em Bancos de Leite Humano

Indicadores Sensoriais



A **Análise Sensorial** é uma ciência que utiliza os sentidos humanos (**visão, olfato, tato, audição e paladar**) para avaliar as características de um produto. É uma ferramenta intensamente utilizada pelas **indústrias** de alimentos, bebidas, cosméticos, perfumes, produtos de limpeza, automóveis e outros, tanto no desenvolvimento como na garantia e otimização da qualidade de seus produtos.

COR

A **cor** é uma **percepção visual** provocada pela ação de um feixe de fótons sobre células especializadas da retina, que transmitem através de informação pré-processada no nervo óptico, impressões para o sistema nervoso.

A cor branca do leite resulta da dispersão da luz refletida pelos glóbulos de gordura e pelas partículas coloidais de caseína e de fosfato de cálcio. A homogeneização torna o leite mais branco, pela maior dispersão da luz.

COR do Leite Humano

A cor do leite humano resulta da presença de seus constituintes e denota a preponderância de uma determinada fração



Fração Lipossolúvel (cores quentes)

Fração Hidrossolúvel (cores frias)

Indicador de Não-conformidade (cores quentes)

Fração Solução (cores frias)

COR do Leite Humano Indicador de Não Conformidade

Cores que oscilam entre o **"vermelho-tijolo"** e o **marrom escuro**, a presença de sangue deve ser pesquisada, uma **não-conformidade** que desqualifica o leite humano ordenhado para o consumo.

A presença de sangue pode ser comprovada, quando necessário, através do mesmo procedimento analítico indicado para o crematócrito. Considera-se positiva a amostra cujo capilar centrifugado denotar a presença de hemácias.

FLAVOR

Flavor é uma sensação fisiológica da interação do **paladar** e **olfato**. A sensação ao ingerir **alimentos**, muitas vezes chamada equivocadamente de **"sabor"** se refere ao **flavor**.

FLAVOR do Leite Humano

Flavor Primário do Leite Humano Ordenhado:

- ◆ Resulta dos próprios constituintes do leite humano ordenhado, atribuído principalmente à relação cloreto/lactose e aos ácidos graxos livres.

Flavor Secundário do Leite Humano Ordenhado:

- ◆ Decorrente de alterações na composição do leite humano ordenhado, bem como da incorporação de substâncias químicas voláteis provenientes do meio externo.

OFF-FLAVOR do Leite Humano Indicador de Não-Conformidade

- ✓ Ranço - odor de sabão de coco
- ✓ Fermentação - odor de coalhada
- ✓ Proteólise - odor de peixe
- ✓ Proteólise + lipólise - odor de ovo podre
- ✓ Cada odor estranho é causado por um tipo de alteração ou por uma associação dos mesmos.

Presença de Sujidades

Presença de corpo estranho (material orgânico ou não), proveniente do uso de utensílios que não foram higienizados de forma correta, ou do próprio ambiente durante os procedimentos de coleta ou armazenamento ou estocagem do produto.

Exemplos de sujidades encontrados no LHO:

Pelos, cabelo, resto de outros alimentos, fragmentos de unha, insetos, pedaços de papel, vidro...

Indicadores Físico Químicos



As **Análises Físico-químicas** são realizadas para verificar as alterações ocorridas no leite humano ordenhado que não podem ser observadas pelos sentidos humanos. É uma ferramenta utilizada para selecionar e classificar o produto.

Acidez



Acidez Original do Leite Humano Ordenhado:

- ◆ micelas de caseína, os sais minerais (dentre os quais destacam-se os fosfatos e citratos), as proteínas do soro do leite.

Tema 14: Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Ementa - Objetivos específicos

Definir os indicadores de qualidade de produto e processo

Acidez

Acidez Desenvolvida do Leite Humano Ordenhado:

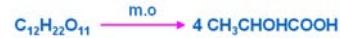
- ❖ decorre do ácido láctico, produzido a partir do crescimento bacteriano

Microbiota primária ou secundária



Crescimento Indesejável → Fermentação Lactose → Ácido Láctico

Processo de Acidificação



Reduz o valor nutricional
Desestabiliza proteínas solúveis
Desestabiliza micelas de caseína
Favorece coagulação
Sempre associada a ação de microrganismos
Altera flavor
Reduz valor imunológico

Fatores que alteram a determinação da Acidez do LHO

- ❖ Em uma titulação rápida, se consegue valores menores e mais corretos de acidez.
- ❖ O contrário, conseqüentemente, permite a precipitação de uma quantidade maior de $Ca_3(PO_4)_2$ e a formação maior de H_3PO_4 .
- ❖ a quantidade de indicador tem grande influencia;
- ❖ A temperatura afeta o resultado da titulação, as temperaturas altas darão resultados de acidez mais altos.

Teor Calórico do LHO

É um critério classificatório do conteúdo energético do leite humano ordenhado

Princípio

Se baseia na determinação do teor de gordura (%) do leite humano ordenhado através da centrifugação de uma alíquota de LHO colocada em um tubo para microhematócrito visando a separação da capa de crema, da fração soro, pela força centrífuga e diferença de densidade

Indicador Microbiológico

Utilizados pra prever a eficiência do processamento e o shelf-life dos alimentos.

Seguem os seguintes critérios:

- ✓ devem ser detectáveis em todos os alimentos cuja a qualidade (ou falta disso) vai ser avaliada
- ✓ seu crescimento e número deve ter correlação direta e negativa com qualidade do produto
- ✓ devem ser de fácil detecção e enumeração e facilmente distinguíveis de outros mos
- ✓ devem ser detectados em um curto espaço de tempo
- ✓ Seu crescimento não deve ser afetado adversamente por outros componentes do produto ou por outros mos

Qual o grupo de mos seria o melhor indicador sanitário?

✓ deve ter correlação direta com qualidade do produto

✓ devem ser de fácil detecção e dar resposta em curto espaço de tempo, de baixo custo e fácil execução

Qual o grupo de mos seria o melhor indicador sanitário?

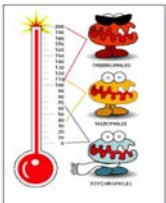
COLIFORMES TOTAIS

- ❖ inclui bactérias gram-negativas não esporuladas, fermentadoras de lactose, com produção de ácido e gás em faixa de temperatura que varia entre 32 e 37°C-6, cujo habitat natural é o trato intestinal dos animais homeotérmicos.

Indicadores de Processo em Bancos de Leite Humano

Temperatura

Controle de Mos pela Temperatura



A **Temperatura** é um parâmetro físico (uma função de estado) descritivo de um sistema que vulgarmente se associa às noções de **frio** e **calor**, bem como às transferências de **energia térmica**, mas que se poderia definir, mais exatamente, sob um ponto de vista microscópico, como a medida da **energia cinética** associada ao movimento (vibração) aleatório das partículas que compõem o um dado sistema físico

Tema 14: Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Ementa - Objetivos específicos

Apresentar o desenvolvimento de um controle de qualidade dinâmico



**Construção de um
Controle de Qualidade
DINAMICO**

Controle Dinâmico da Qualidade

OBJETIVOS

Planejar a Qualidade:


- estabelecimento dos padrões

Manter a Qualidade

- manutenção dos Padrões de Qualidade

Melhorar a Qualidade

- estabelecimento de novos padrões



Controle Dinâmico da Qualidade



The diagram illustrates the PDCA cycle as a circle divided into four quadrants, each with an arrow pointing clockwise to the next quadrant:

- A (top-left, red):** Ação Corretiva Preventiva Melhorias
- P (top-right, blue):** Definir Meta
- C (bottom-left, yellow):** Checar METAS X RESULTADOS
- D (bottom-right, green):** Educar e Treinar, Executar, Coletar Dados

Formulários de Controle de Qualidade

- Documentação que caracteriza e informa sobre origem e produção;
- Construídas baseadas na legislação vigente e nos indicadores de qualidade
- Responsáveis pela rastreabilidade do processo

Tema 14: Sistema de Controle e Ferramentas de Gestão

Ementa - Objetivos específicos

Apresentar a ferramenta HACCP utilizada no controle de qualidade dinâmico dos BLHs

HACCP

Hazard Analysis and Critical Control Points

Sigla HACCP - Pronunciada como "Rassap"
Usada MUNDIALMENTE

No BRASIL

Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

Fatores que alteram a qualidade do LHO

- ✓ Fisiológicos;
- ✓ Microbiológicos;
- ✓ Alimentação da nutriz;
- ✓ Consumo de drogas;
- ✓ Aditivos;
- ✓ Patologias/intercorrências.

Só constrói qualidade quem:

- ✓ Conhece os requisitos do receptor;
- ✓ Conhece os fatores de alteração;
- ✓ Institui medidas preventivas;
- ✓ Acompanha as medidas e avalia os resultados;

Obs: Não basta constatar desvios, tem quem atuar corretivamente buscando o produto mais adequado.

O que é HACCP?

O Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle foi desenvolvido para garantir a produção de alimentos seguros.

Objetivos do HACCP

O Sistema tem enfoque na prevenção de problema e não, na inspeção final do produto.

Permite comprovar através de documentação apropriada, que determinado processo é seguro.

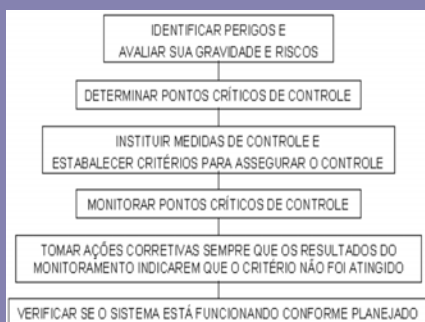
Como previne as contaminações?

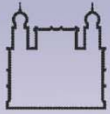
Considera os produtos em todas as etapas e processos desde sua obtenção, processamento, higiene e treinamento do pessoal envolvido, até possíveis problemas ambientais.

Pré-requisitos para o APPCC:

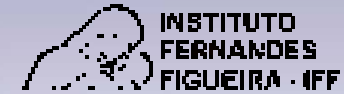
Boas Práticas de Manipulação

- ✓ Projeto físico do BLH e instalações
- ✓ Limpeza e conservação
- ✓ Programa de qualidade da água
- ✓ Recebimento do LHO e estocagem
- ✓ Higiene pessoal dos funcionários
- ✓ Controle de pragas e vetores
- ✓ Manutenção preventiva dos equipamentos
- ✓ Calibração dos instrumentos
- ✓ Treinamentos periódicos dos funcionários





Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



BLH101:P&CQ LHO I - Fundamentos Teóricos

Prática 3

Seleção e Classificação, Pasteurização e CQ Microbiológico

Grupo 1

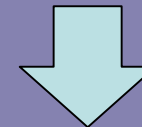
Análises Sensoriais

Acidez Dornic



Grupo 2

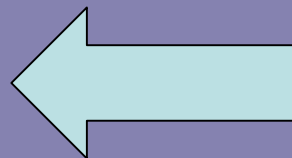
Crematócrito



Grupo 3

Curva de Penetração de Calor

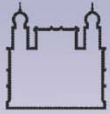
Pasteurização



Grupo 4

CQ

Microbiológico



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

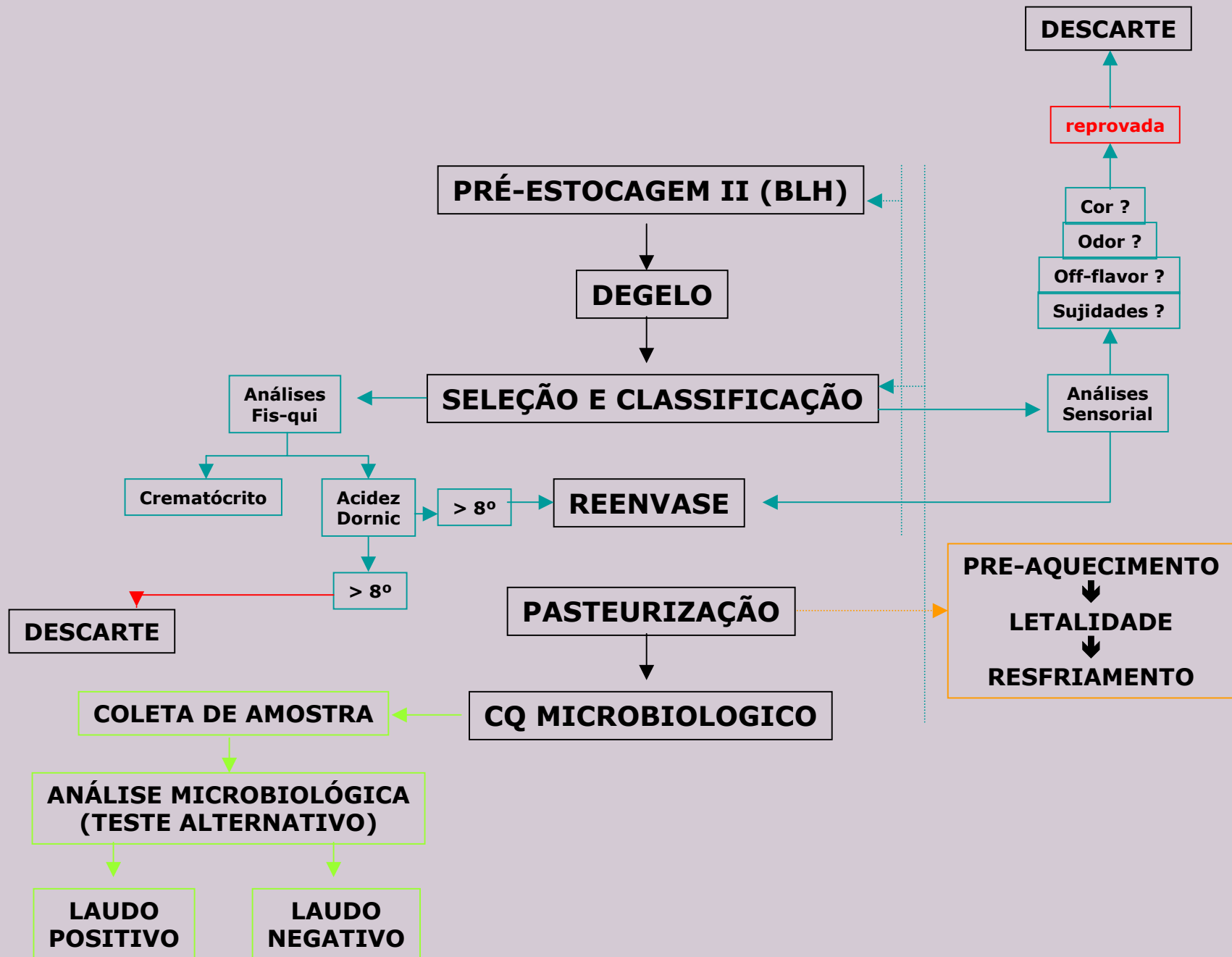


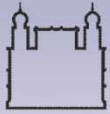
BLH101:P&CQ LHO I - Fundamentos Teóricos

Prática 4

Processamento do LHO







Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

 **ICICT**
Instituto de Comunicação e Informação
Científica e Tecnológica em Saúde

 **INSTITUTO
FERNANDES
FIGUEIRA - IFF**



Programa de Ensino da RedeBLH

BLH102: Processamento e Controle de Qualidade do Leite Humano II - Aspectos Práticos



Participação na rotina do Processamento e Controle de Qualidade do LHO em um polo de ensino totalizando 45 horas de estágio supervisionado

