

**Desenvolvimento de Preparações com Hidrolisado de Frango
para Crianças de 0 a 12 meses com Reações Adversas aos
Leites**

Vanessa Ramos Alves Penterich

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição.

Orientadora: Prof^a Dra. Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva.



**SÃO PAULO
2006**

47364/2006 doc

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores.

Data:

Assinatura:

DEDICATÓRIA

A Deus pelo dom da vida e saúde.
Aos que estiveram ao meu lado nesta difícil, porém recompensadora trajetória.
Às crianças que se beneficiarão destas alternativas alimentares.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva, tábua de salvação que transformou um provável naufrágio em uma redentora ilha de possibilidades.

Ao Professor Fábio Morato Castro, que acreditou sem ver e abriu uma grande oportunidade.

À Professora Maria Helena Matté, pela disposição em participar e apoio constante.

Ao meu marido Eduardo Penterich, pelo carinho intenso e constante.

Aos meus pais Arnaldo e Lucélia, incentivadores permanentes.

À minha irmã, Larissa, grande exemplo e amiga.

Aos responsáveis pelo Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais e Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública - Prof. Titular José Alfredo Gomes Arêas e Profa. Associada Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres.

Aos técnicos do Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais e Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública - Rosana Aparecida Manólio Soares e José Pereira pela disposição em ajudar e transmitir conhecimentos.

À química Maria Lima Garbelotti, do Laboratório de Doces e Amiláceos do Instituto Adolfo Lutz, bem como aos seus colaboradores, pela ajuda na análise de fibras.

Ao Professor Luiz Antonio Gioielli, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, por abrir as portas do seu laboratório para a análise de ácidos graxos e à sua aluna Roberta Claro.

À técnica e nutricionista do Laboratório de Técnica de Dietética do Departamento de Nutrição, Maria Silvéria Emigdio, pelo apoio durante toda a trajetória.

À técnica e nutricionista do Laboratório de Técnica de Dietética do Departamento de Nutrição, Maria Silvéria Emigdio, pelo apoio durante toda a trajetória.

A técnica Milena Dropa do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública, por toda ajuda nas análises microbiológicas; bem como, às alunas Fernanda e Marta.

Ao grupo de trabalho do ambulatório de alergia alimentar, pelo companheirismo e incentivo, em especial à Dra. Ariana C. Yang.

Aos técnicos do laboratório do INCOR pela disposição em liofilizar as preparações.

Ao amigo José Bezerra, colaborador do departamento de nutrição.

A amiga Gabriela Mascaretti, aluna de Iniciação Científica, pela ajuda prática.

Às colegas de mestrado: Maria Carolina Von Atzingen, Ilana Elman, Karina Dantas, Áurea Bombo, Vanessa Crapires, Karoline Frota, Ana Carolina Conti, Susana Machado e Julicristie, pelo apoio e ajuda.

Ao CNPQ pelo incentivo financeiro traduzido em forma de bolsa de estudo.

À FAPESP, pelo financiamento do projeto de pesquisa.

A SADIA, que forneceu o frango, componente essencial da fórmula do hidrolisado.

*"O alimento de uma pessoa
é o veneno de outra"*
- Lucrécios

Penterich VRA. **Desenvolvimento de preparações com hidrolisado de frango para crianças de 0 a 12 meses com reações adversas ao leite.** São Paulo; 2006. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Introdução: As reações adversas ao leite podem ser divididas em alergia alimentar e intolerância. A alergia alimentar caracteriza-se por reações com a participação do sistema imune, e são desencadeadas pelo consumo de proteínas alergênicas. Na intolerância as reações são provocadas por dissacarídeos ou outros componentes e não há ativação do sistema imune. A prevalência de alergia alimentar é de 3% nas crianças com até 3 anos. Existem no mercado fórmulas modificadas do leite de vaca ou de soja, como substitutos, mas de difícil acesso pela população de baixa renda. Fórmulas com proteínas hidrolisadas de leite e soja são amplamente utilizadas, porém não há relatos de fórmulas infantis com hidrolisado de carne.

Objetivo. Desenvolver, caracterizar e verificar a segurança microbiológica de uma formulação infantil e de uma papa de legumes com hidrolisado de carne de frango para crianças de 0 a 12 meses com reações adversas ao leite. **Métodos.** Obtenção do hidrolisado a partir da metodologia desenvolvida por PINTO e SILVA (1999). Desenvolvimento da formulação infantil (FIHF) e da papa de legumes (PLHF). Todos os testes foram realizados em triplicata. Determinação de pH, A_w e viscosidade. Composição centesimal: umidade, proteínas, cinzas, lipídios, carboidratos e fibras. Análises microbiológicas, pesquisa de microrganismos indicadores: Bactérias Mesófilas, Coliformes termotolerantes, *Staphylococcus spp.*, *Salmonella* e Bolores e Leveduras. **Resultados.** Realizaram-se diversos testes com FIHF, resultando na combinação de hidrolisado de frango, glicose, sacarose, creme de arroz, óleo de soja, banha de porco e carbonato de cálcio. Com a PLHF obteve-se uma preparação com mandioquinha, cenoura, couve manteiga, óleo de soja, sal e hidrolisado de frango. O pH, do hidrolisado de frango, da FIHF e da PLHF é de 5,50, 6,50 e 5,50 respectivamente. A A_w da FIHF é 0,973 e da PLHF de 0,972. A viscosidade da FIHF é de 36,9 mPas. Os resultados da composição centesimal mostram que em 100g da FIHF há 3,12g de lipídeos totais, 1,32g de proteínas, 0,23g de cinzas, 6,53g de carboidratos e 50mg de cálcio, totalizando 63 Kcal. A composição nutricional em 100g de PLHF é de 3,71g de lipídeos totais, 2,84g de proteínas, 2,17g de cinzas, 7,81g de carboidratos e 76Kcal. Quanto à segurança alimentar não foi constatada a presença de nenhum dos microrganismos pesquisados acima do permitido pela legislação. **Conclusões.** As preparações desenvolvidas constituem-se boas alternativas alimentares para crianças com reações adversas ao leite em relação às características físico/químicas, ao valor nutricional e à segurança alimentar.

Palavras-chave: alergia alimentar, intolerância à lactose, leite, alternativas alimentares

Penterich VRA. **Development of preparations with chicken hidrolisate to 0 to 12-month-old children with adverse reactions to milk.** São Paulo: 2006
[Master degree dissertation – Faculdade de Saúde Pública da USP]

Introduction: The adverse reactions to milk can be divided in food allergy and intolerance. The food allergy is characterized by reactions with the participation of the immune system, and it is unleashed by the consumption of allergenic proteins. In intolerance the reactions are provoked by disaccharides or other components, and there is no activation of the immune system. The prevalence of food allergy is 3% in children who are up to 3 years old. In the market, one can find infant formulas with modified cow milk protein and soybean, as a substitute, but they are of difficult access to the low income population. Formulas with milk and soybean hidrolisate proteins are widely used, however there is not infant formula with any meat hidrolisate. **Objective:** Development, characterization and verification of microbiological security of an infant formula and a weaning food with chicken hidrolisate to children from 0 to 12 months old with adverse reactions to milk. **Methods:** Attainment of the hidrolisate from the methodology developed by PINTO e SILVA (1999). Development of the infant formula (FIHF) and of the weaning food (PLHF). All the tests were carried with three repetitions. Determination of pH, A_w and viscosity. The centesimal composition: humidity, proteins, ashes, lipids, carbohydrates and total fiber. Microbiological analyses, research of indicating microorganisms: Mesophiles, thermotolerants coliforms, *Staphylococcus* spp., *Salmonella* and molds and yeasts. **Results:** Various tests with FIHF were done, resulting in the combination of chicken hidrolisate, glucose, saccharose, rice starch, soybean oil, lard and calcium carbonate. With PLHF was gotten a preparation with baroa potato (arracacha), carrot, cole, soybean oil, chicken hidrolisate and salt. PH of the chicken hidrolisate, FIHF and PLHF is 5,50, 6,50 and 5,50 respectively. The water activity of FIHF is 0,973 and of PLHF is 0,972. The viscosity of FIHF is 36,9 mPas. The results of the centesimal composition show that in 100g of FIHF there is 3,12g total lipides, 1,32g proteins, 0,23g ashes, 6,53g carbohydrates and 50mg calcium, totalizing 63 Kcal. The nutritional composition in 100g of PLHF is 3,71g total lipides, 2,84g proteins, 2,17g ashes, 7,81g carbohydrates and 76Kcal. The microbiological quality detects no alimentary presence of the microorganisms searched above the allowed parameters set by the law. **Conclusions:** The developed preparations consist in good alimentary alternatives for children with adverse reactions to milk, in relation to phisic/chemistry's properties, nutritional value and food security.

Key words: food allergy, food intolerance, milk, alimentary alternatives

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.1 - Classificação das Reações Adversas a Alimentos	Pg. 9
Quadro 1.2 - Apresentações clínicas e mecanismos de hipersensibilidade alimentar	Pg. 11
Quadro 1.3 - Etapas diagnósticas	Pg. 13

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes da fórmula infantil com hidrolisado de frango (FIHF) (valores apresentados em gramas).	Pg. 55
Tabela 2 - Distribuição em ingredientes da papa de legumes com hidrolisado de frango, valores expressos em gramas.	Pg. 59
Tabela 3 - Média do potencial hidrogeniônico (pH)	Pg. 61
Tabela 4 - Composição centesimal da Fórmula Infantil com Hidrolisado de Frango (FIHF) e da Papa de Legumes com Hidrolisado de Frango (PLHF), média e desvio padrão, em g por 100g de alimento.	Pg. 66
Tabela 5 - Média e Desvio Padrão da triplicata da composição de ácidos graxos da fórmula infantil com hidrolisado de frango	Pg. 77
Tabela 6 - Contagem de microorganismos patogênicos no hidrolisado de frango, nas amostras 1 e 2, ambas com três coletas: no dia do preparo (0 hora), em 72 horas e em 1 semana	Pg. 81
Tabela 7 - Contagem de microorganismos patogênicos na fórmula infantil com hidrolisado de frango, nas amostras 1 e 2, ambas com três coletas: no dia do preparo (0 hora), em 72 horas e em 1 semana.	Pg. 85
Tabela 8 - Contagem de microorganismos patogênicos na papa de legumes com hidrolisado de frango, nas amostras 1 e 2, ambas com três coletas: no dia do preparo (0 hora), em 72 horas e em 1 semana.	Pg. 90

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Viscosidade (Mpas) da Fórmula infantil com hidrolisado de frango, de acordo com a variação da velocidade de cisalhamento (RPM). Pg. 63
- Figura 2 -** Distribuição de macronutrientes (%) na Fórmula Infantil com Hidrolisado de Frango, valores expressos em calorias. Pg. 74
- Figura 3 -** Distribuição de macronutrientes (%) na Papa de Legumes com Hidrolisado de Frango. Pg. 75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μg = micrograma

AA = Ácido araquidônico

APHA = American Public Health Association

λ_w = Atividade de água

BSA = Ágar Sulfito de Bismuto

CPP = Contagem Padrão em Placas

CVS = Centro de Vigilância Sanitária

DHA = Ácido docosa-hexanóico

DRI = Dietary Reference Intakes

DTA = Doenças Transmitidas por Alimentos

FAO = Food and Agriculture Organization

FDA = Food and Drug Administration

FIHF = Fórmula infantil com hidrolisado de frango

FSP/USP = Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

g = Grama

HCFMUSP = Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo

IAL = Rugai e Lisina

IAMFES = International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICMSF = International Commission for the Microbiological Specifications of Foods

IgA = Imunoglobulina A

IgE = Imunoglobulina E

Kcal = Kilocaloria

Kda = kiloDalton

L = Litro

LB = Caldo Lactosado

LCPUFA = Ácidos Graxos Poliinsaturados de Cadeia-Longa

LST = Lauril Sulfate Tetratoato

mg = Miligrama

mL = Mililitro

mPas = miliPascal

MS/OPAS/OMS = Ministério da Saúde/ Organização Pan-americana da Saúde/
Organização Mundial de Saúde

NMP = Número Mais Provável

NRC = National Research Center

° C = Graus Celsius

PCA = Plate Count Agar

pH= Potencial hidrogeniônico

PLHF = Papa de Legumes com hidrolisado de frango

RPM = Rotações por minuto

SCB = Caldo selenito-cistina

SS = Ágar Salmonella-Shigella

TTB = Caldo Tetracionato

UFC = Unidades formadoras de colônias

USDA = United States Department of Agriculture

WHO = World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 EXPLICITAÇÃO DO QUADRO TEÓRICO	1
1.1.1 <i>Cuidados com a alimentação dos 0 aos 12 meses</i>	1
1.1.2 <i>Reações adversas aos leites</i>	7
1.1.3 <i>Alternativas alimentares</i>	16
1.1.4 <i>Utilização dos hidrolisados protéicos</i>	20
1.1.5 <i>Dados sobre o consumo da carne de frango no Brasil</i>	23
1.1.6 <i>Aspectos microbiológicos</i>	24
2. JUSTIFICATIVA	40
3. OBJETIVOS	41
4. METODOLOGIA	42
4.1 MATERIAIS	42
4.1.1 <i>Local</i>	43
4.2 MÉTODOS	44
4.2.1 <i>Obtenção do Hidrolisado Protéico</i>	44
4.2.2 <i>Desenvolvimento das preparações</i>	45
4.2.3 <i>Análise Química e da Composição Centesimal das Preparações</i>	46
4.2.4 <i>Valor nutritivo das preparações</i>	49
4.2.5 <i>Adequação de Nutrientes</i>	49
4.2.6 <i>Análise microbiológica</i>	49
4.2.7 <i>Análise estatística</i>	53
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES COM HIDROLISADO DE FRANGO.....	54
5.2 DETERMINAÇÃO DO PH, ATIVIDADE DE ÁGUA E VISCOSIDADE DAS PREPARAÇÕES COM HIDROLISADO DE FRANGO	61

5.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS PREPARAÇÕES COM HIDROLISADO DE FRANGO	66
5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	80
6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	94
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

ANEXOS

Anexo 1: PARECER DO COMITÉ DE ÉTICA DA FSP/USP	A1
Anexo 2: PESQUISA DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS	A2
Anexo 3: PESQUISA DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES	A3
Anexo 4: PESQUISA DE <i>Staphylococcus aureus</i>	A4
Anexo 5: PESQUISA DE <i>Salmonella</i> spp	A5
Anexo 6: PESQUISA DE BOLORES E LEVEDURAS	A6

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Crianças de 0 a 12 meses de idade, que sofrem de alergia e/ou intolerância aos leites, têm dificuldade em alimentar-se devido à dieta de exclusão, muitas vezes acarretando em desnutrição e déficit no crescimento. Este estudo visa contribuir com as pesquisas que têm sido desenvolvidas em função da criação e caracterização da estrutura, composição, valor nutritivo e higiene dos alimentos, à medida que propõe a utilização de hidrolisado de frango como alimento alternativo para crianças nesta faixa etária, com restrições relacionadas ao consumo de leite.

1.1 EXPLICITAÇÃO DO QUADRO TEÓRICO

1.1.1 Cuidados com a alimentação dos 0 aos 12 meses

O primeiro ano de vida de uma criança é caracterizado por um crescimento acelerado e grande desenvolvimento, incluindo habilidades para mastigar e digerir alimentos, e o autocontrole do processo de ingestão de alimentos, para atingir o padrão alimentar do adulto (MS/OPAS/OMS 2002).

No início da vida o crescimento é acelerado. Uma criança normal cresce em média 25cm no primeiro ano de vida e nos primeiros seis meses, ganha entre 20 e 30 gramas por dia. Assim, o peso do lactente normal dobra aos 04 meses e triplica ao final do primeiro ano de vida (CTENAS e VITOLLO 1999).

A alimentação da criança no primeiro ano de vida deve atender às necessidades nutricionais, que variam de acordo com a idade, sexo, ritmo de crescimento, atividade física, fatores genéticos, condições ambientais, além da necessidade de multiplicação e diferenciação celular, fenômenos que caracterizam o

crescimento e desenvolvimento (BRESOLIN et al. 2000; MS/OPAS/OMS 2002; SPOLIDORO e MÜLLER 2001; MURAHOVSKI e MIRANDA 2003)

Na faixa etária dos 0 a 12 meses a alimentação é de suma importância para a saúde futura do indivíduo. Nesta fase ela visa proporcionar ao lactente equilíbrio entre idade, peso e estatura, desenvolvimento físico e psíquico harmoniosos, funcionamento adequado do organismo e resistência às infecções (ORNELLAS e ORNELLAS 2001).

Segundo BRESOLIN et al. (2000), nos primeiros meses de vida a imaturidade funcional, principalmente do sistema digestório, renal e imunológico, inspira cuidados em relação à alimentação oferecida, que deverá satisfazer as necessidades nutricionais e adequar-se à capacidade funcional da criança.

A partir destas premissas, estabeleceram-se diretrizes básicas para uma alimentação adequada:

1 – Até os seis meses de vida o lactente deve apenas consumir leite materno (MS/OPAS/OMS 2002). O leite materno contém todos os nutrientes que a criança necessita, inclusive água e anticorpos, tendo uma composição específica que propicia o crescimento e o desenvolvimento adequados da criança (CTENAS e VITOLO 1999). Além disso, proporciona o contato, a atenção e o carinho, que são críticos para o desenvolvimento da criança (BRESOLIN et al. 2000).

2 – A partir dos seis meses, deve-se introduzir outros alimentos de forma lenta e gradual, mantendo o aleitamento materno até os dois ou mais anos de idade (MS/OPAS/OMS 2002).

3 – O consumo dos alimentos complementares (cereais, tubérculos, carnes, frutas e legumes) deve ser de três vezes ao dia se a criança estiver recebendo leite

materno (desjejum, almoço, jantar) e cinco vezes caso não esteja (desjejum, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar) (MS/OPAS/OMS 2002). A água deve ser oferecida em pequenos goles, numa colher (BESSA 2003).

O período da transição da alimentação é definido como o período em que a dieta muda do aleitamento exclusivo para a mista, onde há inclusão de outros alimentos até a alimentação da família. Esta é uma etapa crítica que, com frequência, conduz a má-nutrição e à enfermidade, quando a criança não recebe uma dieta adequada, em qualidade e quantidade, preparada higienicamente e aceitável do ponto de vista social, cultural e econômico (SPOLIDORO e MÜLLER 2001; MURAHOVSKI e MIRANDA 2003).

4 - A consistência da dieta deve ser espessa e oferecida em colher, iniciando-se com consistência pastosa e aumentando-se gradativamente até chegar a alimentação da família (MS/OPAS/OMS 2002). Iniciar a papa salgada com batata, abobrinha e cenoura e depois de três dias, pode-se acrescentar carne. Cada alimento novo deve ser introduzido gradativamente, um a um, podendo-se identificar qualquer intolerância ou alergia (CTENAS e VITOLO 1999).

A Sociedade de Pediatria de São Paulo recomenda a introdução da papa de frutas e uma papa salgada por volta dos seis meses, quando em aleitamento materno exclusivo. Sugere compor a papa salgada com cereais e tubérculos, leguminosas, carne (bovina, frango ou peixe), hortaliças, óleo, sal e cebola. Introduzem-se também os ovos, levando-se em conta a história familiar de atopia para o consumo da clara de ovo e outras proteínas potencialmente alergênicas (PALMA et al. 1998).

5 - Deve-se atentar para a higiene no preparo e manuseio de alimentos, utilizando-se sempre alimentos frescos e bem lavados. A pessoa que manuseia os alimentos deve estar com as mãos bem lavadas (MS/OPAS/OMS 2002).

As necessidades nutricionais de crianças alérgicas são as mesmas de crianças saudáveis. Deve-se dar atenção especial ao consumo de proteínas, calorias e gorduras em crianças com alergia alimentar, porque estas podem ter maior necessidade de calorias e proteínas, dependendo da gravidade das manifestações da doença (MOFIDI 2003).

Crianças quando recebem leite de vaca, desenvolvem anticorpos tipo-específicos contra as suas proteínas. Admite-se que a sensibilização ocorre em lactentes, especialmente no primeiro semestre de vida, por ser a mucosa infantil mais permeável a macromoléculas (BRESOLIN et al. 2000).

Outros mecanismos citados seriam a deficiência transitória de imunoglobulina A (IgA) secretora e uma alteração na resposta imune mediada por imunoglobulina E (IgE), fatores que sustentam a recomendação de se manter o aleitamento exclusivo até os seis meses de idade, evitando-se o contato com proteínas estranhas (BRESOLIN et al. 2000).

Vários estudos têm demonstrado os hábitos alimentares de crianças de até 1 ano de idade. Em um estudo conduzido em São Paulo por CACAVALLLO (2005), com crianças de até seis meses com risco de atopia; verificou-se que há grande diferença entre o preconizado, aleitamento materno exclusivo até os seis meses, e o praticado, observando que a duração média do aleitamento materno exclusivo de 96,32 dias. Outro estudo feito por MENELLA et al. (2006b), verificou que apenas 14% das crianças de 04 a 05 meses eram exclusivamente amamentadas, que 82% já haviam consumido fórmulas infantis, e que a inclusão de outros alimentos foi precoce na dieta, pois 45% já ingeriam frutas, 76% cereais infantis e 62% papa salgada.

A prevalência de crianças de 4 e 6 meses de vida em aleitamento exclusivo é de respectivamente 48,3% e 38,5%, pois no primeiro mês de vida, as crianças já consumiam água (7,3%), chás (23,2%) e sucos (2,7%), estes resultados foram obtidos no trabalho de VIEIRA et al. (2004), realizado na Bahia. Assim, apesar da recomendação da Organização Mundial de Saúde do aleitamento exclusivo até os seis meses de vida, esta ainda não é uma prática muito popular.

A composição nutricional do leite materno é um dos padrões de referência para a elaboração e qualificação de fórmulas infantis, visto que as crianças absorvem e usam adequadamente os seus macronutrientes (ROIG et al. 1999). Assim, segundo LONNERDAL e FORSUM (1985) em 100mL de leite materno, há em média 0,8 a 1,0g de proteínas, 4,5g de lipídeos e 7,0g de carboidratos.

O *Food and Nutrition Board* – Conselho de Alimentação e Nutrição dos Estados Unidos da América - estabeleceu as *Dietary Reference Intakes* (DRI – Consumo Dietético de Referência) para todas as faixas etárias (2002). De acordo com a DRI (2002) as necessidades energéticas, para crianças de 0 a 5 meses são de 650 Kcal ao dia e para crianças de 6 a 12 meses é de 850 Kcal. A necessidade diária de carboidratos da criança de 0 a 5 meses é de 60g, e da idade de 06 a 12 meses de 95g. A necessidade de gordura total é 31g/dia para a primeira faixa etária e de 30g/dia para a segunda. As necessidades de proteínas estão em torno de 9,1g/dia dos 0 aos 5 meses e de 13,5g/dia dos 6 aos 12 meses.

A adequação da dieta também depende do volume de alimento que a criança tem capacidade de ingerir a cada refeição. O volume de alimento que uma criança é capaz de consumir a cada refeição aumenta com a idade. Ao nascer ela aceita cerca de 20 mL, aos 3 meses consome de 100 a 150 mL, e com 1 ano de idade estará ingerindo 200 mL ou mais (MAHAN e ESCOTT-STUMP 2002). Portanto, o bebê de

três meses consome de 700 a 800 mL de leite materno por dia, conforme verificado por WATERLOW e THOMSON (1979).

O *Codex Alimentarius* é uma referência global para os consumidores, os produtores de alimentos, os órgãos governamentais relacionados com o controle de alimentos e para o comércio internacional. Foi criado pela FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação) e pela OMS (Organização Mundial de Saúde) nos anos 60. Seu objetivo central é elaborar normas, diretrizes e códigos de práticas de alimentos, aceitos em nível internacional. É uma das prioridades do *Codex Alimentarius* proteger a saúde do consumidor, relacionada com a segurança e a adequação do alimento ao consumo (MARTINELLI e GELLI 2005).

Há uma norma do *Codex Alimentarius* específica para fórmulas infantis, de 1997, que determina a composição de nutrientes. Estas diretrizes estabelecem que uma fórmula infantil deve conter de 1,8 a 4,0g/100Kcal de proteínas e de 3,3 a 6,0g/100kcal de gordura.

O cálcio é um mineral importante para o crescimento e desenvolvimento do lactente, pois participa na formação dos ossos e dentes. O alimento consumido pelo lactente que contém cálcio é o leite materno, ou de vaca ou as fórmulas infantis enriquecidas (ROIG et al. 1999). A necessidade diária do lactente é de 800mg por dia (NRC 2000). Um estudo de LANOU et al. (2005) mostra que a ingestão média, pelo lactente, de cálcio é <400mg/dia, e que esta quantidade consumida pode ser prejudicial ao desenvolvimento ósseo. Assim, confirma-se a importância de verificar a necessidade de suplementação deste mineral na dieta dos lactentes.

A percepção do sabor por bebês, também tem sido tema de pesquisas, porque o gostar ou não gostar de determinados sabores, pode ser um obstáculo para a escolha de alimentos saudáveis (GUTHRIE et al. 2000). TATZER et al. (1985), realizaram um estudo com prematuros, verificando a preferência deles por

uma solução glicosada, ao invés de água pura, ao terem recebido repetidas vezes os dois líquidos, utilizando como parâmetro a quantidade de alimento que eles consumiam.

Hábitos alimentares e preferência são definidos nos primeiros anos de vida, portanto, há a importância de uma alimentação saudável e variada nesta faixa etária. Um estudo de MENELLA e BEAUCHAMP (2002) com crianças de 4 a 5 anos evidencia que o alimento consumido na infância influenciou suas preferências. As crianças que foram alimentadas com fórmulas de leite hidrolisado preferiam mais alimentos ácidos que as crianças que haviam recebido fórmulas a base de leite, já as crianças que consumiam fórmulas de soja, tinham uma preferência por alimentos amargos. Assim, as escolhas alimentares dos primeiros meses de vida podem influenciar no consumo futuro de alimentos.

Outro estudo de MENELLA et al. (2006a) feito com crianças de 6 a 11 meses, comparou hábitos e preferências de crianças que recebiam fórmulas infantis a base de leite, com as que ingeriam fórmulas com proteína do leite hidrolisada. A observação foi que crianças que consumiam fórmulas com hidrolisado, ingeriam mais brócolis e couve-flor, do que as outras, provavelmente por estarem mais habituadas ao sabor dos voláteis sulfúricos decorrentes da hidrólise.

Assim sendo, a alimentação deve ser adequada à necessidade especial de cada indivíduo, para garantir o crescimento e desenvolvimento adequado. Por isso, muitas vezes são necessários ajustes na alimentação.

1.1.2 Reações adversas aos leites

Manifestações clínicas associadas aos alimentos são relatadas desde o século XVIII, mas apenas em 1950 se demonstrou a preocupação de estabelecer uma

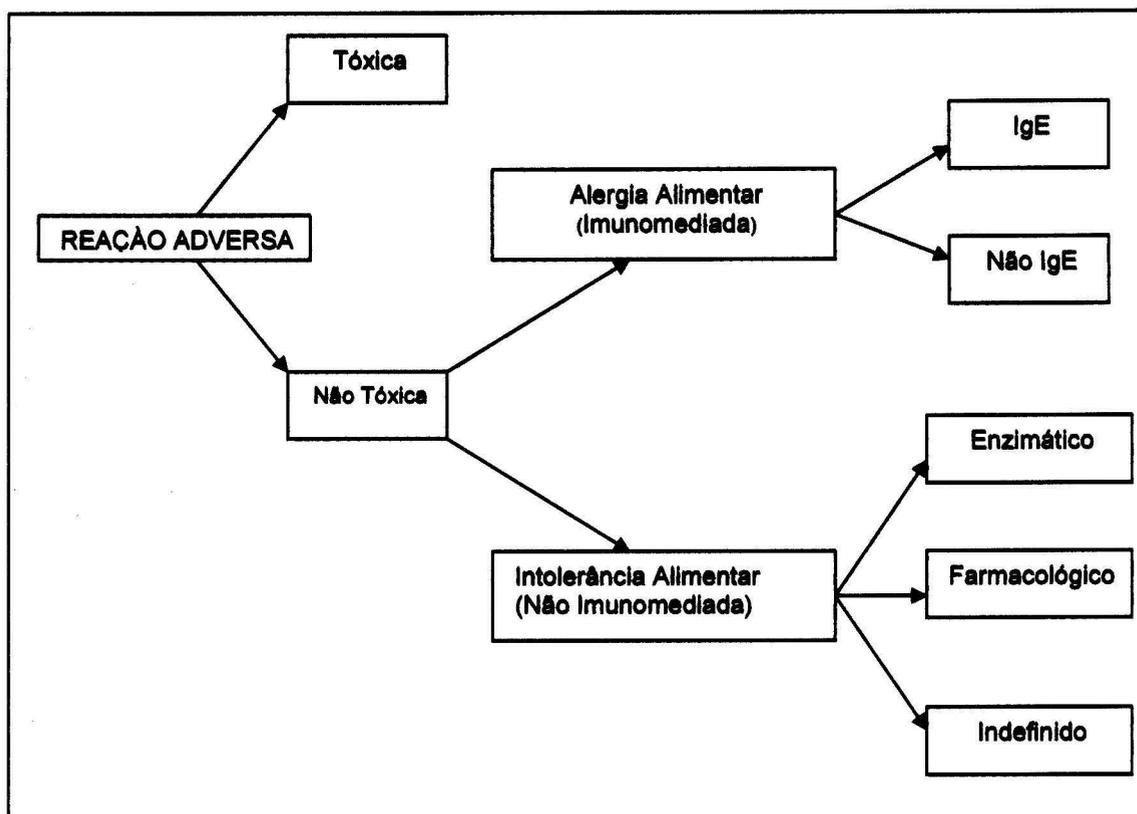
relação causal entre sintomatologia clínica e a ingestão de alimentos (JACOB et al. 2006).

A reação adversa a um determinado alimento pode ser considerada qualquer manifestação clinicamente anormal atribuída à ingestão deste, e pode ser classificada como alergia ou intolerância alimentar (SAMPSON 2004).

A classificação mais utilizada divide as reações a alimentos em tóxicas e não tóxicas (Quadro 1.1). As reações tóxicas ocorrem em qualquer indivíduo exposto a uma dose suficiente e são causadas por fatores inerentes ao alimento como, por exemplo, toxinas, alimento deteriorado, etc. As não tóxicas dependem de uma susceptibilidade individual e são denominadas alergia alimentar, quando imunomediadas; e intolerância alimentar, quando não imunomediadas (SAMPSON 2004).

A alergia alimentar é uma reação específica contra uma substância que, normalmente não seria prejudicial (alérgeno). O alérgeno é sempre uma estrutura protéica, que ativa uma resposta do sistema imune. A alergia alimentar pode ser mediada pela Imunoglobulina E (IgE) (hipersensibilidade imediata) ou decorrente de outros tipos de resposta de hipersensibilidade imunológica e, nesta situação é definida como alergia alimentar não IgE mediada (SAMPSON 2004).

A intolerância é definida como uma reação adversa reproduzível (repetida) a um determinado alimento ou seu componente. A intolerância alimentar, também chamada de hipersensibilidade alimentar não alérgica, relaciona-se com doenças orgânicas (insuficiência pancreática), deficiências enzimáticas (intolerância à lactose), e reatividade anormal a certas substâncias presentes nos alimentos (reações por aditivos alimentares) ou sem causa definida (idiopática) (VATN 1997).

Quadro 1.1: Classificação das Reações Adversas a alimentos

Fonte: YANG et al. 2006.

Qualquer alimento pode ser causa de uma reação adversa, mas diferenças culturais e geográficas da dieta influenciam sua etiologia. Apesar disso, na alergia alimentar, um pequeno número de alimentos é responsável por 90% das reações: leite de vaca, ovo, trigo, soja, amendoim, castanhas, peixe e crustáceos. No Brasil, dados sugerem um padrão de sensibilidade semelhante ao norte americano, porém com a inclusão do milho e menor participação do amendoim (YANG et al. 2006).

Cerca de 85% das crianças com alergia ao leite, ovo, trigo e soja desenvolvem tolerância até os 5 anos de idade, e assim, são menos comuns em adultos. As alergias a amendoim, castanhas, peixe e frutos do mar são consideradas persistentes (YANG et al. 2006).

A intolerância ao leite de vaca, a mais prevalente delas, deve-se à deficiência ou ausência de lactase, ou sensibilidade à proteína. Caracteriza-se pela incapacidade de hidrolisar a lactose em monossacarídeos, acarretando em diarreia e desnutrição (SABRA 1994). Na superfície da mucosa do intestino delgado há células que produzem e liberam a lactase, na ausência desta enzima, a lactose passa a ser fermentada pela flora intestinal, produzindo gases e ácidos orgânicos, o que resulta numa diarreia osmótica (WOLFF et al. 2003). Segundo estudo de VATN (1997), os principais sintomas encontrados em pacientes com intolerância ao leite de vaca foi dor, diarreia, náusea, prurido, dispnéia e outros.

A deficiência na produção da enzima lactase pode ser congênita, sendo denominada de primária (WOLFF et al. 2003). A forma secundária surge em decorrência de lesões na mucosa intestinal por agentes infecciosos ou tóxicos (KODA et al. 1987). A prevalência de deficiência secundária de lactase no Brasil é alta, chegando a 45% (SABRA 1994).

A alergia ao leite de vaca, pode ocorrer a partir do nascimento, por um possível mecanismo de sensibilização através da placenta. O leite de vaca contém aproximadamente 3,5% de proteína, sendo as principais as caseínas e as proteínas do soro. As proteínas do leite de vaca que mais causam alergias em lactentes são a β -lactoglobulina, a α e a β caseína, e a α -lactoalbumina. Mesmo que a α -lactoalbumina represente apenas 10% das proteínas totais do leite, é a mais alérgica, acredita-se que seja por esta ser a única proteína que não está presente no leite humano. Também, ela resiste à ação do suco gástrico, o que dificulta a digestão no intestino delgado. Os lactentes que tem alergias mais graves à proteína podem ter níveis séricos aumentados da imunoglobulina IgE (JACOB et al. 2006; LESSOF 1996).

As manifestações clínicas variam muito de acordo com a sintomatologia e gravidade (Quadro 1.2). Dependem da fisiopatologia envolvida, de fatores ligados ao indivíduo (atopia, idade, doenças associadas) e do alimento (quantidade ingerida, tipo de preparação ou cozimento); além de eventualmente sofrerem influência de situações específicas como exercício ou ingestão concomitante de álcool. Os quadros de intolerância também são muito variados, e podem até mesmo se apresentar com sintomas generalizados indistinguíveis de uma reação anafilática (YANG et al. 2006).

Quadro 1.2- Apresentações clínicas e mecanismos de hipersensibilidade alimentar

Intolerância	Alergia		
Mecanismo			
Não Imunológico	Imunológico		
	IgE	Misto	Não IgE
Cefaléia Urticária Angioedema Broncoespasmo Sintomas gastrointestinais Reação sistêmica (anafilactóide)	Anafilaxia Urticária Angioedema Rinoconjuntivite Broncoespasmo Sínd. Alergia Oral Dor abdominal Diarréia Vômitos Palpitação Hipotensão	Dermatite atópica Esofagite eosinofílica alérgica Gastroenterite eosinofílica alérgica	Enteropatias induzidas por proteínas Dermatite herpetiforme

Fonte: YANG et al. 2006

A pele é o principal órgão acometido e a dermatite atópica é uma manifestação comum caracterizada por prurido intenso, xerose e eczema. Cerca de 35% das crianças com dermatite atópica moderada apresentam reações alérgicas a alimentos. Sabe-se, nesta situação, que as reações são mediadas por anticorpos IgE (YANG e COHON 2006).

A expressão da reação alérgica pode variar com a idade, e os sintomas podem desaparecer, ou mudar com o passar do tempo. Na infância os principais sintomas atópicos (um conjunto de afecções alérgicas caracterizadas por interferência hereditária e mecanismo reagínico) são vômitos, diarréia, refluxo, dermatite atópica, asma, rinite e rinoconjuntivite. Em crianças com sensibilidade ao leite de vaca as reações são distribuídas da seguinte forma: 50% das manifestações acontecem no trato gastrointestinal, 31% na pele e 19% no sistema respiratório (HALKEN 2004).

A prevalência de hipersensibilidade alimentar é de 7,5% em crianças com até 3 anos de vida; e destes, cerca de 3% apresentam reações ao ingerirem leite de vaca. Cerca de 80% das crianças com alergia ao leite de vaca desenvolvem tolerância em até um ano, dessas, 60% tem reações mediadas por IgE, e 25% destes, se mantêm atópicos até a segunda década de vida, sendo que 35% ainda desenvolvem outras alergias alimentares (JACOB et al. 2006; SAMPSON 2004; OSBORN e SINN 2004).

O diagnóstico correto de reação adversa a alimentos é difícil e a diferenciação entre intolerância alimentar e alergia envolve etapas descritas no quadro 1.3. Para resolver esta questão, três etapas são fundamentais: identificar o(s) alimento(s) suspeito(s), comprovar a causalidade e elucidar o mecanismo fisiopatológico envolvido (tóxico, farmacológico, metabólico, imunológico) (SICHERER e TEUBER 2004; YANG et al. 2006.) Na etapa de investigação de causalidade a retirada do alimento suspeito da dieta requer educação dos responsáveis e educadores da criança na leitura de rótulos e se o alimento consta como ingrediente de alguma preparação a ser consumida, principalmente em ambientes como restaurantes (SICHERER e TEUBER 2004).

Quadro 1.3- Etapas diagnósticas

Identificação do alimento suspeito	Causalidade	Mecanismo fisiopatológico	Confirmação diagnóstica definitiva
História Testes cutâneos IgE específica <i>in vitro</i> Diário alimentar	História Diário alimentar Dieta de restrição Provas de provocação	História Testes cutâneos IgE específica <i>in vitro</i> Outros testes conforme diagnósticos diferenciais suspeitados (por exemplo, teste de intolerância a lactose)	Prova de provocação oral duplo cego placebo controlado (DBPCFC)*

* Passado de anafilaxia alimentar grave é uma contra-indicação relativa

Fonte: YANG et al. 2006

O leite materno possui baixa incidência de ocorrência de alergias e intolerâncias, porém, quando vômitos e diarreias se manifestam desde o primeiro dia de amamentação, é possível que haja uma intolerância congênita pela lactose. Neste caso, deve-se substituir o leite materno por um isento de lactose. Alguns estudos demonstram que há possibilidade de proteínas sensibilizarem o bebê através do leite materno, ou até da placenta, dependendo da dose de alimentos alérgenos consumidos pela mãe (MORENO-ANCILLO et al. 2004). A eliminação total do alimento que contém o alérgeno, é a única terapia comprovada para hipersensibilidade alimentar (MOFIDI 2003).

A prevenção de manifestações alérgicas na infância pode ser feita pela não exposição aos alérgenos no início da vida, devido à chance de sensibilização, provavelmente por causa da imaturidade fisiológica do sistema imune e da função intestinal. Fatores de risco para o desenvolvimento de atopia incluem a história

familiar, níveis elevados de IgE e células T no sangue do cordão umbilical e durante a infância (HAN et al. 2003).

Uma medida de prevenir a atopia é evitar o contato do lactente com os alimentos, neste caso, pode-se utilizar uma dieta de exclusão de alimentos para a mãe que amamenta, retirando-se da dieta o leite de vaca, a soja, o ovo, o trigo, o peixe, as castanhas e o amendoim. Com isto, evita-se o contato antes dos 4 meses de idade do lactente com alimentos potencialmente alergênicos visto que, há possibilidade das proteínas destes alimentos serem encontradas no leite materno (HAN et al. 2003; DOCENA et al. 2002).

Em crianças consideradas com risco de desenvolver atopia, (aquelas que tem pais atópicos), têm sido demonstrado que a exclusão do leite materno, evita o desenvolvimento da doença (HALKEN 2004; KRAMER e KAKUMA 2004; FIOCCHI et al. 2004). Algumas crianças que apresentam dermatite atópica, ou eczema, ao deixarem de ingerir o leite materno, mostraram uma melhora significativa da pele (EIGNMANN 2004; KRAMER e HAKUMA 2004). Embora a retirada do leite materno ainda seja uma controvérsia, pelas vantagens indiscutíveis do aleitamento, como a proteção contra infecções e o estreitamento da relação entre mãe e filho (EIGNMANN 2004).

A dieta de exclusão deve ser feita com cuidado, principalmente se há um alimento nutricionalmente importante a ser evitado, porque se torna mais difícil atingir um consumo adequado de calorias e nutrientes (MOFIDI 2003). Em estudo realizado por CHRISTIE et al. (2002), verificou-se o efeito da dieta de exclusão sobre o estado nutricional de crianças alérgicas a um ou mais alimentos, as conclusões são que estas crianças apresentam baixa estatura para a idade, principalmente no grupo com alergia ao leite de vaca e, portanto, necessitam de uma orientação nutricional, sobre a exclusão dos alérgenos e inclusão de alimentos

nutritivos. Assim, ressalta-se a importância de uma orientação dietética individualizada, adequando-se aos hábitos alimentares da família, estado fisiológico e nutricional do indivíduo, situação econômica e social.

O sucesso da dieta de eliminação depende da aderência da família, e da pessoa, ao tratamento e da adequação nutricional da dieta. A remoção de apenas uma proteína da dieta pode resultar na exclusão de uma série de alimentos, podendo causar comprometimento social (MOFIDI 2003).

Durante a investigação de alergia alimentar pode haver a retirada de alimentos suspeitos, e se esta restrição abranger muitos alimentos ou for muito prolongada pode levar ao comprometimento do estado nutricional, principalmente em crianças. No relato de caso de uma criança com suspeita de alergia alimentar feito por PENTERICH et al. 2005, constatou-se que após a restrição prolongada de leite de vaca e derivados, ovo, soja, óleo de soja e canola, chocolate, amendoim, tomate e morango, a criança encontrava-se com peso e altura abaixo do percentil 5 nas curvas de crescimento, Norte Americanas, do NATIONAL CENTER OF HEALTH STATISTICS (NCHS 2000), indicando desnutrição. Após a reintrodução gradual e adequada dos alimentos excluídos, a criança apresentou recuperação do estado nutricional, evidenciando a problemática da dieta de exclusão neste caso.

No estudo de hábitos alimentares e estado nutricional de crianças com risco de atopia menores de seis meses, feito por CACAVALLLO (2005) em São Paulo verificou-se uma prevalência de desnutrição aos seis meses de vida de 1,32%, valor abaixo do esperado, apesar da curta duração do aleitamento materno exclusivo (96 dias) e da inclusão de fórmulas infantis.

Assim, conhecer as alternativas alimentares existentes e sua adequação é importante para garantir o bom estado nutricional das crianças com reações adversas aos leites.

1.1.3 Alternativas alimentares

Para crianças que possuem as patologias mencionadas anteriormente, que têm impossibilidade de consumir leite de vaca, ou restrição de leite materno, existem diversas fórmulas infantis disponíveis no mercado que são isentas de lactose ou de proteínas alérgicas. Estas fórmulas são originadas da modificação do leite de vaca, ou do extrato de soja, também conhecido como leite de soja (CARAZZA e MARCONDES 1991).

Para crianças com reações ao leite não imunomediadas como as intolerantes à lactose, as alternativas alimentares disponíveis são as fórmulas com soja, ou fórmulas de leite de vaca, com exclusão da lactose, substituindo-a por outro carboidrato como a maltodextrina. Estas fórmulas são bem toleradas, mas normalmente de alto custo (MALDONADO et al. 1998).

As alternativas ao aleitamento materno podem ser necessárias quando a produção de leite materno é insuficiente e há necessidade de uma complementação, ou ainda quando a criança apresenta reações adversas a este; as fórmulas com proteína da soja ou hidrolisadas são as mais comumente utilizadas (DOCENA et al. 2002).

Porém, estas formulações custam até três vezes mais do que as fórmulas infantis comuns e assim, devido ao seu custo elevado, muitas vezes elas se tornam indisponíveis para a população de baixa renda (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS 2000; PINTO e SILVA et al. 1998).

A definição de fórmulas infantis é que são produtos líquidos ou em pó, destinadas a alimentar crianças de 0 a 24 meses incompletos, que funcionam como

Fórmulas hipoalergênicas são definidas como alimentos especiais para lactentes com menor capacidade de causar uma resposta alérgica, mas, afirma-se que os produtos declarados como "hipoalergênicos" não podem garantir que estas reações não ocorrerão; especialmente em crianças hipersensibilizadas. São produzidas pela hidrólise de diferentes fontes de proteína, como a caseína ou o soro do leite de vaca e soja, seguidos por processamento, como tratamento por calor, e/ou ultrafiltração, ou então em misturas de aminoácidos, e apenas estas são consideradas não-alergênicas. Estes produtos foram classificados de acordo com o grau de extensão da hidrólise protéica em parcialmente ou extensivamente hidrolisados (HALKEN e HOST 2004).

O uso de fórmulas extensivamente hidrolisadas tem sido preconizado na prevenção e tratamento de alergia alimentar. O estudo conduzido por HAN et al. (2003) comparou o efeito de fórmulas de proteína de leite de vaca hidrolisadas parcial e extensivamente na prevenção do desenvolvimento de dermatite atópica em crianças com alto risco de desenvolver atopia. Demonstrou que a profilaxia com o uso de fórmulas extensivamente hidrolisadas é melhor ao das parcialmente hidrolisadas, isto porque as primeiras contêm peptídeos de menor peso molecular (<1,5 kDa). Porém, as fórmulas extensivamente hidrolisadas têm algumas desvantagens como sabor desagradável, alto custo e podem provocar diarreia. Também, demonstraram que para efeito de prevenção pode-se usar uma fórmula parcialmente hidrolisada como complemento ou substituição do leite materno.

No estudo conduzido por HALKEN et al. (2000) que comparou o efeito preventivo de uma fórmula com proteína do leite de vaca parcialmente hidrolisadas, com duas extensivamente hidrolisadas, em crianças com alto risco para o desenvolvimento de atopia, conclui que fórmulas parcialmente hidrolisadas foram menos efetivas na prevenção da atopia do que as extensivamente hidrolisadas, pois ainda restavam resquícios de proteínas do leite.

desenvolvimento de atopia, conclui que fórmulas parcialmente hidrolisadas foram menos efetivas na prevenção da atopia do que as extensivamente hidrolisadas, pois ainda restavam resquícios de proteínas do leite.

O estudo de HALKEN e HOST (2004) observou que o consumo de fórmula hipoalergênica, combinado com a exclusão de alimentos sólidos durante os primeiros quatro a seis meses de vida reduz a incidência de alergia à proteína do leite de vaca, se comparado com crianças que consumiram fórmulas com leite de vaca. Estes dados também foram confirmados por CHANDRA (2002).

Outra pesquisa comparou a alergenicidade *in vitro* de diversos leites maternizados e hipoalergênicos, demonstrando que mesmo nas fórmulas com proteína do leite de vaca extensivamente hidrolisada, havia a presença de epítomos que poderiam desencadear uma reação alérgica e concluíram que a alternativa alimentar com menor alergenicidade seriam as fórmulas contendo aminoácidos (DOCENA et al. 2002).

Porém, as fórmulas mais comumente disponíveis comercialmente, são aquelas com hidrólise parcial de proteínas de leite de vaca, e estas podem desencadear reações em indivíduos hipersensíveis (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2000).

Têm-se utilizado também como alternativa alimentar o leite de cabra, porém esta não é uma boa opção, por conter caseína com alta alergenicidade (DOCENA et al. 2002). Um estudo realizado com 26 crianças que apresentavam alergia ao leite de vaca, mostrou que destas, 24 tiveram reações ao consumirem leite de cabra (MOFIDI 2003).

DOCENA et al. (2002) estudaram a alergenicidade *in vitro* do leite de diferentes animais mamíferos como a cabra, ovelha, vaca e égua. Todos eles, com

exceção do leite de égua, contém componentes que se assemelham às proteínas alergênicas do leite de vaca, resultando em reatividade cruzada e alergenicidade. O leite de égua é o mais semelhante ao leite materno

As fórmulas à base de soja são alimentos livres de lactose e de proteínas do leite de vaca, contendo gordura originada de uma mistura de óleos vegetais e carboidratos, como a maltodextrina, amido de milho e a sacarose (MALDONADO et al. 1998).

Outra questão importante é a concomitância de alergia à soja em crianças com alergia ao leite de vaca. Estudos têm mostrado uma prevalência de até 50% de reação adversa à proteína da soja por crianças alérgicas ao leite de vaca e destas 30 a 35% acabam desenvolvendo também alergia à soja (MALDONADO et al. 1998). Em um estudo realizado na Coreia, onde a soja é um alimento que faz parte do hábito alimentar da população, constatou-se que 18,1% das crianças sensibilizadas à proteína do leite de vaca também são à da soja (AHAN et al. 2003). Outro estudo verificou, em diversos países, que 10,5% das crianças com reações adversas ao leite tem alergia à soja (CORDLE 2004).

A busca por alternativas alimentares para crianças alérgicas ao leite de vaca e à soja é intensa, pois existem poucas opções nutritivas para elas. Até mesmo o consumo de proteínas do leite de vaca e da soja hidrolisadas pode ser arriscado para crianças muito sensibilizadas, como mencionado anteriormente. Assim sendo, FIOCCHI et al. (2003) desenvolveram uma fórmula com hidrolisado de arroz, que é altamente energético e que poderia ser uma alternativa. Porém, não é adequada nutricionalmente, porque contém proteínas de baixo valor biológico, e é pobre em gordura, ambos nutrientes que são importantes para o crescimento adequado da criança (MOFIDI 2003).

Uma alternativa dietética utilizada por alguns hospitais, como o Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HCFMUSP), é a fórmula infantil com caldo de frango. Entretanto, tendo em vista a forma como ela é preparada, e o cálculo de sua composição nutricional ser estimado por tabelas, ao invés de ter sido analiticamente comprovado, estima-se que ela tenha uma quantidade insuficiente de proteínas. Além disso, suas proteínas não estão sob forma hidrolisada, que são melhores absorvidas (PINTO E SILVA et al. 1998).

Verificou-se que fórmulas com hidrolisado protéico são de baixo custo e possível de serem feitas em casa (LESSOF 1996). Fórmulas contendo proteínas de soja e leite hidrolisadas, têm sido usadas como alternativa, para tratar crianças com alergia ou intolerância alimentar (OSBORN e SINN 2004).

1.1.4 Utilização dos hidrolisados protéicos

Desde 1970 os hidrolisados passaram a ser cada vez mais utilizados com finalidades terapêuticas para a manutenção do estado nutricional de pacientes com restrições de proteínas ou aminoácidos em sua dieta, podendo ser usados em sondas e dietas enterais. Assim tornou-se necessário o desenvolvimento de uma técnica para "pré-digestão" de proteína que fosse de baixo custo, rápida e fácil para o uso em hospitais e residências (STABILE et al. 1991).

Os hidrolisados protéicos podem ser usados em diferentes propósitos como, por exemplo, produzir pequenos aminoácidos para uso em produtos dietéticos ou com finalidades especiais. A proteína pré-digerida *in vitro* é útil para a alimentação de idosos, atletas, recém-nascidos, prematuros, em fórmulas para crianças que apresentam diarreia, gastroenterite, má-absorção, fenilcetonúricos e crianças

alérgicas, por ser de mais fácil e rápida digestão e contribuir para a preservação do trato gastrointestinal (GRIMBLE et al. 1986; STABILE et al. 1989).

O valor nutricional dos hidrolisados está diretamente relacionado à natureza da proteína de origem, que deverá ser de alto valor nutricional, e ao método de hidrólise que possibilite a obtenção de misturas de peptídeos com pesos moleculares diferentes (LOPEZ et al. 2002).

A hidrólise total ou parcial da proteína da soja e do leite tem sido amplamente utilizada em fórmulas infantis (HAN et al. 2003). Hidrolisados de leite, soja e carne constituem peptídeos de baixo peso molecular, especialmente di e tripeptídeos, e ainda aminoácidos livres (SILVESTRE 1997). Proteínas parcialmente hidrolisadas (com pesos moleculares entre 5 a 20 KDa) podem ser utilizadas em necessidades nutricionais e fisiológicas específicas, como suplemento nutricional ou ainda na substituição de aminoácidos sintéticos (MALDONADO et al. 1998; HALKEN et al. 1995).

O desenvolvimento de dietas com hidrolisados se baseia na evidência de que as proteínas alergênicas mais comuns têm um peso molecular entre 10 a 70 KDa. O peso molecular ideal para uma proteína ser considerada de baixa alergenicidade é bem variável, de 2,5 a 18 KDa, porém, isto se dá devido ao tipo de proteína e sua hidrólise, que pode resultar num produto com maior ou menor poder de estimular a IgE (MCNEILL et al. 2001).

Segundo estudo de ATZINGEN (2005) o peso molecular do hidrolisado de frango preparado através de reação enzimática com a bromelina é em média de 3,5 KDa, ou seja, dentro do recomendado para ser considerado uma fonte protéica de baixa alergenicidade. Além disso, a carne de frango é considerada de baixa alergenicidade, não sendo citada entre os alimentos que mais causam reações adversas (HIRSCHBRUCH e TORRES 1997).

Os hidrolisados podem ser obtidos através da hidrólise ácida, alcalina ou enzimática. No processo ácido ou alcalino há inespecificidade na quebra de ligações peptídicas, e redução da biodisponibilidade dos peptídeos pela formação de compostos não utilizáveis pelo organismo, enquanto que na hidrólise enzimática mantém-se a qualidade nutricional dos aminoácidos (LAHL e BRAUN 1994).

A digestão ou hidrólise enzimática quebra a maioria das estruturas terciárias da proteína, e com isto a maioria dos epítomos reconhecidos como antígenos pelo sistema imune, porém, sabe-se que não há eliminação total dos sítios alérgicos (MCNEILL et al. 2001).

No estudo, meta-análise, realizado por OSBORN e SINN (2004), constatou-se não haver nenhuma fórmula infantil desenvolvida com hidrolisados de carne. Neste e em outro estudo há evidências de que em crianças atópicas que não podem ser exclusivamente amamentadas, o uso de fórmulas extensivamente hidrolisadas, em lugar do leite de vaca, reduz os sintomas da alergia (HALKEN e HOST 2004).

A absorção da proteína hidrolisada tem sido considerada melhor do que a dos aminoácidos livres em dietas enterais (SILK et al. 1985). Outro estudo aponta o uso de hidrolisados de carne bovina em dietas enterais de crianças prematuras, obtendo-se bons resultados (TAKEDA e OKEDA 1970).

O produto resultante da hidrólise apresenta a desvantagem de possuir sabor residual amargo devido à quebra das ligações peptídicas, que produz peptídeos amargos. Os peptídeos contendo aminoácidos hidrofóbicos, como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, metionina, fenilalanina e triptofano, são responsáveis por esta característica (PEDERSEN 1994). Há possibilidade da adição de gelatina, amido de milho e soja, para eliminar ou reduzir o gosto amargo (ATZINGEN 2005; PEDERSEN 1994; PINTO e SILVA 1995). No estudo de ATZINGEN

(2005) constatou-se que, dentre estas, a substância que produzia melhores resultados em reduzir o sabor amargo é a gelatina em pó sem sabor.

As diferenças de sabor entre fórmulas a base de leite, e fórmulas com hidrolisado de leite ou de soja são grandes. As fórmulas com leite de vaca são descritas como tendo um sabor adocicado e "similar ao cereal", já as fórmulas com proteína hidrolisada tem características marcantes, com sabor típico amargo ou ácido e odor desagradável. Porém, um estudo realizado nos Estados Unidos da América, demonstrou que se os bebês recebem o hidrolisado antes dos 04 meses de idade, a aceitação é igual à das crianças que recebem fórmulas sem proteínas hidrolisadas, mas os autores concluem ser necessário o desenvolvimento de fórmulas com proteína hidrolisada de sabor mais agradável (MENELLA et al. 2004).

O estudo relacionando a aceitação dos hidrolisados de diferentes tipos de carne nas preparações mostra que as líquidas como, vitaminas e sopas com hidrolisado de frango, apresentaram maior aceitabilidade do que as preparadas com o hidrolisado de carne bovina e de peru (PINTO e SILVA 1995).

PINTO e SILVA et al. (1998), verificaram que a utilização de hidrolisados de carne bovina, frango e peru contribuem para o aumento do aporte protéico, de vitaminas e minerais, sugerindo a sua utilização como alternativa em dietas especiais. Além disso, o hidrolisado de carne é 50 a 70% mais econômico em relação aos hidrolisados de proteína de leite de vaca (em formulações enterais) (PINTO e SILVA et al. 1999).

1.1.5 Dados sobre o consumo da carne de frango no Brasil

A mais recente Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) do IBGE analisa a composição dos gastos, e do consumo das famílias segundo as classes de

rendimento, entre julho de 2002 e julho de 2003 e, permite verificar na comparação com as pesquisas anteriores, algumas mudanças expressivas nas despesas e nos hábitos dos brasileiros. Entre os tipos de alimentos consumidos pelas famílias brasileiras, considerando apenas a alimentação no domicílio, o grupo de carnes, vísceras e pescados é o que mais pesa nas despesas (18,34%), seguido de leites e derivados (11,94%), panificados (10,92%) e cereais, leguminosas e oleaginosas (10,36%) (IBGE 2006).

A pesquisa sobre o consumo de alimentos no Brasil entre 1995 e 1996, realizada pelo IBGE, nas regiões metropolitanas de Belém, Fortaleza, Recife, Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Porto Alegre e Brasília, mostra um aumento do consumo alimentar *per capita* de carne de frango de 131,05% em relação à realizada em 1975, enquanto a carne bovina cresceu apenas 26,43% (PONTES 2000).

Dados da última pesquisa POF, realizada nas mesmas capitais brasileiras, indica nos anos de 2002 e 2003, o consumo médio de 14,180 Kg de carne de frango *per capita* (IBGE 2006). Considerando-se o consumo domiciliar *per capita* por classe de renda, o frango é um dos alimentos que mais chama a atenção, por ser consumido em quantidades muito próximas por todas as faixas de renda, e a carne bovina continua sendo privilégio dos mais ricos (PONTES 2000).

1.1.6 Aspectos microbiológicos

A microbiologia de alimentos é a ciência que estuda todos os microorganismos presentes naturalmente nos alimentos, os que os contaminam, e os que podem ou não ser benéficos ao organismo. A falta de higiene no preparo e na preservação dos alimentos são algumas das vias de contaminação (SILVA JR 2002). Somente no estado de São Paulo, no ano de 2001, foram registradas 224

de crianças com até 1 ano, devido a diarreia de origem infecciosa (MINISTÉRIO DA SAÚDE/SVS/DASIS 2003).

A segurança alimentar é definida como “garantia de que o alimento não causará dano ao consumidor quando for preparado e/ou consumido de acordo com seu uso intencionado” (FRANCO e LANDGRAF 1996).

Na última década o aumento em toxinfecções alimentares, tornou-se um importante problema de saúde pública no mundo. Atribuí-se este aumento a duas circunstâncias, a primeira decorrente das mudanças no estilo de vida, que incluem mais alimentação de conveniência, mais alimentos prontos e menos tempo devotado à cocção de alimentos; a segunda deve-se ao avanço da ciência em descobrir novos microorganismos patogênicos e ao aperfeiçoamento das tecnologias para a identificação de presença de microorganismos nos alimentos (MENG e DOYLE 2002).

Informações recentes do Centro Americano de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) sugerem que doenças causadas por alimentos acometem cerca de 76 milhões de pessoas com enfermidades, 325000 hospitalizações e 5000 mortes apenas nos Estados Unidos (MEAD et al. 1999).

As populações que sofrem maior risco de uma toxi-infecção alimentar são as crianças, idosos, gestantes e indivíduos imuno-suprimidos (BEUMER e KUSUMANINGRUM 2003).

A Organização Mundial da Saúde define doenças transmitidas por alimentos (DTA) como sendo aquelas de natureza infecciosa ou tóxica, causadas por agentes que invadem o organismo através da ingestão de alimentos. Define-se surto quando duas ou mais pessoas apresentam uma síndrome semelhante após a ingestão de um alimento comum (PIRES et al. 2002).

As bactérias são os agentes mais importantes nas DTA, sendo o alvo principal de muitas medidas de controle. Pela sua capacidade de crescer nos alimentos, as bactérias desempenham um importante papel nas doenças gastrointestinais, através de infecções e toxinfecções (VARNAM e EVANS 1991).

As causas mais comuns de DTA são: contaminação cruzada (mediante contato entre alimentos cozidos e *in natura*); utensílios ou pratos contaminados; higiene inadequada dos manipuladores de alimentos e temperatura de armazenamento imprópria (COLLINS et al. 1968).

A higiene da cozinha doméstica também é de grande preocupação já que muitas contaminações originam-se neste ambiente. As principais causas de infecções dão-se no preparo dos alimentos muito antes de seu consumo, aquecimento e resfriamento inadequados e contaminação cruzada, devido a superfícies de preparo contaminadas, pois ao se manipular alimentos os patógenos facilmente se espalham em utensílios e superfícies de contato. Outras fontes de contaminação nas residências são pessoas, animais, pestes, alimentos e água contaminada (BEUMER e KUSUMANINGRUM 2003).

A cozinha é um ambiente propício para o desenvolvimento de bactérias que contaminam os alimentos, por reunir diversos fatores como água, pH neutro ou ligeiramente ácido, oxigênio, nutrientes e temperatura ideal (35° C) (SILVA JR. 2002). A contaminação microbiológica de preparações de forma caseira foi apresentada em um estudo realizado no Brasil com dietas enterais, preparadas em hospitais de São Paulo com alimentos *in natura*, e apresentou resultados inaceitáveis de contaminação microbiológica (MITNE 2001).

Deve-se dar atenção a três medidas principais para se assegurar a segurança de alimentos feitos em casa, a higiene durante o preparo, a higiene pessoal e sanitária e a higiene ambiental. Assim, há necessidade de treinamento e

atenção dos que manipulam alimentos em casa (BEUMER e KUSUMANINGRUM 2003).

Medidas para a redução dos riscos de transmissão de doenças por alimentos precisam ser tomadas (MENG e DOYLE 2002). Um método de avaliação e redução de perigos relativos ao consumo de um alimento, bastante difundido e utilizado, é o HACCP (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle). Neste sistema, são avaliados perigos de contaminação biológica, química e física durante todo o processamento do alimento. O próximo passo é identificar um Ponto Crítico de Controle, que é a etapa em que um controle pode ser aplicado e um perigo do alimento pode ser prevenido, eliminado ou reduzido a níveis aceitáveis. Estas medidas podem ser a cocção, resfriamento e armazenamento, higiene do ambiente e manipulador, dentre outros. A terceira etapa é estabelecer limites críticos para medidas de prevenção associada com cada ponto crítico, como limites de temperatura e pH. E a última etapa é o estabelecimento de medidas para monitorar os pontos críticos, que são registros de observações e medidas para verificar o controle das etapas anteriores (CLIVER e RIEMAN 2002; UNTERMAN 1998).

Um método de avaliação da contaminação de um alimento é construir um modelo quantitativo de acesso ao risco (QRAM), que usa distribuições de probabilidade do modelo considerando importantes fatores de risco relativos ao alimento e aos microorganismos como tempo, temperatura, condições de produção, armazenamento, transporte, manipulação, conservação, pH, entre outros. A vantagem deste método em relação ao HACCP é que considera fatores de risco após o processamento do alimento em relação à segurança microbiológica do alimento (OSCAR 2004).

Segundo ADAMS e MOSS (1997) existem 4 parâmetros que afetam a contaminação e o desenvolvimento de microorganismos em alimentos, são eles as

propriedade intrínsecas e extrínsecas do alimento, os fatores implícitos e os do processamento.

Quanto aos fatores intrínsecos e extrínsecos do alimento podem-se citar:

Atividade de Água (A_w): a atividade de água determina a concentração de solutos de um alimento. A maioria das bactérias deteriorantes cresce em $A_w > 0,91$ e as patogênicas em $A_w > 0,94$, com exceção do *S. aureus* que se desenvolve em $A_w > 0,86$. A capacidade de desenvolvimento de microorganismos é reduzida numa A_w mais baixa. A temperatura ótima de crescimento pode prolongar a faixa de atividade de água na qual ocorre o crescimento. Assim, vários fatores em conjunto precisam ser analisados (JAY 2000).

pH: a maioria das bactérias e demais microorganismos crescem melhor em pH neutro, em torno de 6,6 a 7,0. Alimentos que possuem um pH mais ácido como picles, tendem a manter sua qualidade microbiológica (ADAMS e MOSS 1997).

Temperatura de conservação: Cada microorganismo se desenvolve em uma temperatura ótima, os psicotróficos ($< 7^\circ\text{C}$ e faixa ótima: $20-30^\circ\text{C}$), mesófilos ($20-45^\circ\text{C}$, faixa ótima: $30-40^\circ\text{C}$) e termófilos ($> 45^\circ\text{C}$ e faixa ótima: $55-65^\circ\text{C}$) (JAY 2000).

Teor de nutrientes: para seu desenvolvimento, os microorganismos necessitam de substratos como fonte de energia, que podem ser: açúcares, aminoácidos, álcoois, carboidratos complexos, e ainda alguns lipídeos (JAY 2000).

Existem diversos tipos de bactérias que contaminam os alimentos. Dentre as patogênicas, ou seja, que causam doenças, podemos citar:

- Bactérias mesófilas aeróbias: são aquelas que podem sobreviver e multiplicar-se em temperaturas que variam de 20 até 45°C . Dentro

deste grupo encontramos as bactérias mais patogênicas (SILVA JR. 2002). Os microorganismos mesófilos fornecem informações sobre as características higiênico-sanitárias do processamento e armazenamento do alimento (VIDAL-MARTINS et al. 2005).

A fórmula infantil, em geral, contém carboidratos como lactose, glicose de milho e outros açúcares e gorduras que fornecem nutrientes para o crescimento microbiano. De acordo com PESSOA (1978), quase todas as infecções causadas em berçários de São Paulo foram causadas pela contaminação de fórmulas infantis por *Salmonella* e *Escherichia coli*.

A preparação de alguns tipos de fórmulas infantis não envolve uma etapa de eliminação de microorganismos, assim as maiores fontes de contaminação são os ingredientes (como a água), os manipuladores, os equipamentos e os frascos (mamadeiras e bicos) (ALMEIDA et al. 1999).

A preparação dos frascos para administração (mamadeiras) de fórmulas infantis também é de séria preocupação por serem possíveis veículos de contaminação. Um estudo conduzido por FEIN e FALCI (1999) verificou que 60% das mães não seguiam as recomendações de esterilização da mamadeira, e do bico e de usar água fervida para a reconstituição do pó da fórmula infantil. Os autores observaram também, que após o preparo da fórmula, esta foi mantida em temperatura ambiente em vez de refrigerada, até o momento da ingestão, o que resultou em casos de diarreia nas crianças estudadas.

Um estudo de DENG et al. (1998), realizado nos Estados Unidos da América, verificou a contaminação de cereal de arroz utilizado em preparações para crianças por *Escherichia coli* O157:H7 e bactérias mesófilas, apesar de pouco se conhecer sobre o crescimento deste microorganismo em alimentos secos. Os autores observaram em média $6,31 \log_{10}$ UFC/g, em pH 6,8 de *Escherichia coli* O157:H7 e

<10 UFC/g de bactérias mesófilas em amostra de mesmo pH, evidenciando o risco de contaminação veiculado por este alimento.

A segurança alimentar de frutas frescas e vegetais é de preocupação por serem veículos de transmissão de bactérias, e são alimentos muito utilizados na alimentação infantil, tanto crus como cozidos. No entanto, o número de casos de enfermidades confirmados, associados com frutas e vegetais crus ainda é menor do que os casos atribuídos aos alimentos de origem animal (MENG e DOYLE 2002).

As bactérias mais comumente encontradas nas carnes de aves cruas são: coliformes totais e fecais, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringers*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocitogenes*, *Campylobacter* spp., e *Staphylococcus aureus* (SILVA JR. 2002).

Um trabalho realizado na Espanha por ALVAREZ-ASTORGA et al. (2002) mostra que naquele país a carne de frango tem-se tornado a carne mais consumida na dieta, no entanto, é de preocupação para a Saúde Pública sua contaminação por microorganismos patogênicos. Os autores afirmam que a contaminação depende da quantidade de bactérias presentes na carcaça do frango crua que será manipulada, das condições de higiene no decorrer do preparo, e de tempo e temperatura de armazenamento. O grupo obteve, nas amostras estudadas, presença de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em 76,7% e 93,3%, respectivamente. O fato aponta para a necessidade de atenção de fornecedores, consumidores e agentes de saúde pública em orientar a cocção adequada desta carne para eliminação de patógenos.

1.1.6.1 Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

O índice de presença de coliformes fecais é empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, das condições higiênico-sanitárias, visto que a

população deste grupo é constituída de uma alta concentração de *E.coli*. Sua presença indica a possibilidade de haver outros microorganismos entéricos no alimento. Os coliformes fecais são determinantes da estimativa de vida de prateleira ou inocuidade para o consumo (SIQUEIRA 1995). A via fecal-oral de transmissão de *E.coli* de homem para homem tem um papel importante na disseminação de epidemias, o que indica que o alimento está contaminado com fezes humanas. Assim, a higiene básica de manipulação de alimentos é uma medida essencial de prevenção (UNTERMANN 1998).

Os coliformes termotolerantes são bactérias gram-negativas que fermentam a lactose, produzindo gás e acidificando, em 48 horas, sob altas temperaturas (44°C a 46°C), e produzem colônias escuras com um alo metálico em Agar tipo Endo. Este grupo de bactérias é representado por gêneros da família das enterobactérias: *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*. Como a *E.coli* é a bactéria mais indicativa de contaminação fecal é necessário determinar sua incidência no alimento (JAY 2000).

A *E.coli* é uma enterobactéria natural na microbiota do humano e de animais de sangue quente. Há seis categorias patogênicas de *E.coli* que desencadeiam quadros de toxi-infecção alimentar. Alguns sorotipos de *E.coli* são causadores de gastroenterites, principalmente em crianças e idosos ou convalescentes, com tempo de incubação de 6 a 36 horas e duração de dois dias (SIQUEIRA 1995).

A *E.coli* O157:H7, é um dos tipos mais virulentos desta bactéria, podendo causar diarreia e até severa colite hemorrágica (CLIVER e RIEMAN 2002). Tem como principal veículo de contaminação a carne bovina mal cozida, outros são carne de frango, carneiro, leite cru e pasteurizado. Ainda se sabe pouco quanto à sobrevivência deste microorganismo em alimentos desidratados, ou o crescimento em alimentos infantis reconstituídos (DENG et al. 1998).

1.1.6.2 *Salmonella* spp.

O gênero de bactérias *Salmonella* é constituído por microorganismos gram-negativos, não esporulados, patogênicos, que crescem em pH em torno de 4,5 e 8 (faixa ótima entre 6,0 e 7,5), e em temperatura de 5°C a 46°C (ótima entre 35°C e 37°C), numa a_w mínima de 0,93 a 0,96. Diferentes dos coliformes estas bactérias não fermentam a lactose (SIQUEIRA 1995).

Salmonella spp. é parte da família das *Enterobacteriaceae* e podem ser patogênicas ao homem e animais. Apesar dela poder colonizar o intestino sem causar doença, a penetração na mucosa intestinal pode induzir a salmonellose, pela produção de toxina estafilocócicas e citoxinas, manifesta com diarreia e doença sistêmica (CLIVER e RIEMAN 2002).

A taxa de salmonelloses nos Estados Unidos está entre 15 e 20 casos por 100.000 pessoas. Aproximadamente 10% delas são causadas por carnes de aves, sendo 6,6% advindas do peru e 4,4% do frango e ovos (OSCAR 2004). A infecção por bactérias do gênero *Salmonella* possuem uma taxa de mortalidade em torno de 4,1%, devido a complicações decorrentes do processo infeccioso (JAY 2000).

Em um estudo conduzido por OSCAR (2004), o autor observou que a contaminação da carne de frango por *Salmonella* spp. pode ter uma incidência de 30% durante a criação do frango, o que pode variar muito de acordo com as práticas de produção e processamento.

A inativação térmica da *Salmonella* spp. durante a cocção depende de fatores como a combinação de tempo e temperatura, tamanho e formato do pedaço da carne de frango e método de cozimento. Definindo-se como temperatura boa para o cozimento de 62,2°C, durante pelo menos 30 minutos (OSCAR 2004).

As infecções em humanos por *Salmonella* spp. podem ser prevenidas ou minimizadas com esforços na saúde pública, em implementar métodos de higiene pessoal e cuidados na produção e processamento das carnes, como a implantação de métodos de HACCP (CLIVER e RIEMAN 2002). Assim, é importante garantir a ausência desta bactéria em alimentos prontos para o consumo, já que pequenas contagens pode causar enfermidades (JAY 2000).

1.1.6.3 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* inclui mais de 30 espécies, mas 18 são de interesse real para contaminação de alimentos. São bactérias gram-positivas. As gastroenterites ocasionadas por estas bactérias devem-se à ingestão de alimentos que contém uma ou mais toxinas estafilocócicas que são produzidas por algumas espécies de *Staphylococcus*. O gênero mais relacionado com esta produção é o *Staphylococcus aureus* (JAY 2000).

O habitat comum de bactérias do gênero *Staphylococcus* é o homem e os animais. Colonizam a pele, e mucosas como do nariz e da boca. Estes organismos são encontrados na orofaringe dos seres humanos com prevalência de 35 a 40% e na boca e saliva de 10 a 35% (SERAFINI et al. 2003). Por isso, a contaminação dos alimentos ocorre comumente pós-manipulação, indicando más práticas de higiene pessoal e de manipulação (JAY 2000).

A toxina estafilocócica é uma proteína simples, facilmente solúvel em água, resistente à ação enzimática e termorresistente. Apesar da cocção ser capaz de destruir a bactéria *Staphylococcus aureus*, se houver toxinas presentes no alimento, elas não serão totalmente inativadas, nem por métodos de cocção normal, nem pela pasteurização e outros métodos de tratamento térmico correntes.

É necessário cerca de 0,015 a 0,357 µg de toxina estafilocócica ingerida por Kg de peso corporal para produzir intoxicação no homem (SIQUEIRA 1995).

A ingestão de alimentos que contém estas toxinas estafilocócicas é um dos tipos mais comuns de doenças ocasionadas por alimentos no mundo. Os sintomas normalmente se desenvolvem rapidamente (2 a 4 horas), as principais manifestações clínicas são náusea, vômito, convulsão, diarreia, prostração e desidratação, são de curta duração (1 a 2 dias) e não tem seqüelas permanentes (CLIVER e RIEMAM 2002).

O crescimento e a produção da toxina estafilocócica são influenciados por uma variedade de fatores ambientais e nutricionais como temperatura, pH, A_w , composição da atmosfera, níveis de sal, microflora competitiva, entre outros. De forma geral, é necessário o crescimento bacteriano para a produção da toxina (CLIVER e RIEMAM 2002).

Staphylococcus aureus podem crescer entre 6,7 a 47,8°C, com temperatura ótima de 37°C. A toxina estafilocócica é produzida entre 10 a 45°C com uma faixa ótima de 37 a 40°C. Quanto ao pH o crescimento do *Staphylococcus aureus* pode ocorrer entre 4,5 a 9,3, sendo ótimo o pH neutro, mas as toxinas estafilocócicas são produzidas numa faixa menor entre 5,15 e 9,0. Em relação à A_w , tanto para crescimento da bactéria como para produção da toxina estafilocócica, a faixa ótima é acima de 0,99. As taxas de crescimento e produção da toxina são menores em condições anaeróbias. Em alimentos submetidos ao tratamento por calor, onde há uma redução na quantidade e variedade de bactérias presentes, qualquer contaminação posterior com *Staphylococcus aureus* teria uma vantagem competitiva com a microflora o que favoreceria seu crescimento e produção de toxina (CLIVER e RIEMAM 2002).

Os alimentos que mais veiculam contaminação por *Staphylococcus aureus* são as carnes, embutidos, hortaliças e laticínios (JAY 2000).

Num estudo conduzido por SERAFINI et al. (2003), os autores constataram que das 144 amostras de leite humano ordenhado pasteurizado, trazidos ao banco de leite, havia *Staphylococcus aureus* em cinco (3,5%), o que poderia ser interpretado como contaminação secundária a partir da pele e fossas nasais dos manipuladores, ou por condições higiênicas ou sanitárias insatisfatórias dos utensílios empregados. Já no leite cru, observou-se que *Staphylococcus aureus* esteve presente em 10 (5,2%) amostras. Evidenciando que o processo de pasteurização teve uma eficácia parcial na eliminação dos microorganismos.

1.1.6.4 Bolores e Leveduras

Os bolores também podem ser denominados de fungos, são microorganismos multicelulares, filamentosos, que se alimentam de matéria orgânica inanimada ou vivem como parasitas em hospedeiros. Seu habitat natural é o solo, ar, água e em matéria orgânica em decomposição. As leveduras são fungos não-filamentosos, também abundantes na natureza. Certos bolores e leveduras são benéficos ao homem auxiliando na produção de alimentos e medicamentos. Outros podem causar doenças em vegetais, animais e humanos (SIQUEIRA 1995).

Os bolores e leveduras são aeróbios, capazes de se desenvolver em A_w baixa de 0,80 a 0,88. Multiplicam-se em uma ampla faixa de pH entre 2,0 e 8,5, o que torna estes microorganismos importantes contaminantes de frutas e demais produtos ácidos. São microorganismos mesófilos com temperatura ótima de crescimento entre 25 a 30°C (SIQUEIRA 1995).

Estes microorganismos são indesejáveis nos alimentos, porque são capazes de produzir uma grande variedade de enzimas que, agindo sobre os mesmos,

provocam sua deterioração. Além disso, muitos fungos podem produzir metabólitos tóxicos quando se multiplicam. Esses metabólitos recebem a denominação genérica de "micotoxinas" e, quando ingeridos com os alimentos, causam alterações biológicas prejudiciais, que vão desde alergias até a carcinogênese (NOVAK et al. 2002).

A presença de bolores e leveduras em alimentos pode indicar contaminação advinda do meio ambiente ou ser o resultado de manipulação em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, além de armazenamento em condições de tempo e temperatura inadequados (SILVA JR. 2002; SIQUEIRA 1995). Os bolores e as leveduras são microorganismos produtores de toxinas e podem ser encontradas no intestino, mãos e boca do homem, além de no meio ambiente. Os fungos mais comumente observados em carnes refrigeradas e congeladas são os filamentosos da classe zigomicetos denominados *Thamnidium* (SIQUEIRA 1995).

A contagem de bolores e leveduras é usada como parte do critério microbiológico de alimentos lácteos em todo o mundo. Em um estudo sobre a microbiota de manteigas vendidas no município de São Paulo, foi observado que em 94% das amostras foi detectada a presença dos seguintes fungos: *Cladosporium* em 18%, *Penicillium* em 12%, *Geotrichum* em 8%, *Aspergillus* em 6%, e *Trichoderma* em 6%¹⁵ (NOVAK 2002).

Ao examinarem microbiologicamente 2.533 amostras de leite de vaca procedentes de 32 propriedades de 18 municípios de São Paulo, COSTA et. al (1986) revelou-se a presença de bolores e leveduras em 11,7% das amostras estudadas.

Como os bolores ocorrem em grande escala na natureza, a sua presença no leite humano ordenhado pode servir como indício de contaminação advinda do meio externo. A presença desse grupo de microorganismos no leite traz consigo além do

problema da deterioração, a possibilidade da produção de micotoxinas (NOVAK 2002). No estudo conduzido por SERAFINI et. al (2003), bolores e leveduras também foram observados em 144 amostras de leite humano cru 43 (22,2%).

1.1.6.5 Regras de Ouro da OMS para a preparação higiênica de alimentos

A Organização Mundial de Saúde estabeleceu 10 regras para o preparo inócuo de alimentos, oferecendo métodos de manipulação, armazenamento e preparo que podem reduzir o risco de que os microorganismos patogênicos venham a contaminar, sobreviver, ou se multiplicar nos alimentos. Estas regras, foram citadas e adaptadas por FIGUEIREDO (2003), e estão descritas a seguir:

1. Preferir alimentos de boa procedência, que possam ter passado por algum processo de beneficiamento. Apesar de muitos alimentos serem melhores e mais saudáveis em estado natural (por exemplo, as frutas e as hortaliças), outros só são seguros quando estão tratados. Alimentos que se consomem crus devem ser lavados e desinfetados cuidadosamente. Assim, convém sempre adquirir o leite pasteurizado em vez do leite cru e, se possível comprar frangos (frescos ou congelados) que tenham sido tratados por irradiação ionizante.

2. Cozinhar bem os alimentos. Muitos alimentos crus (em particular os frangos, a carne, o leite não pasteurizado) estão a princípio, muito contaminados por microorganismos patogênicos. Estes podem ser eliminados após cocção adequada dos alimentos. A temperatura de cocção deve chegar pelo menos a 70^o C em todo o alimento (internamente e externamente).

3. Consumir imediatamente os alimentos cozidos. Para evitar a proliferação de microorganismos, que pode ocorrer quando alimentos cozidos são

deixados em temperatura ambiente, convém consumi-los imediatamente após o cozimento.

4. Guardar cuidadosamente os alimentos cozidos. As sobras de alimentos cozidos podem ser guardadas, se forem respeitadas as seguintes condições: deve haver calor (acima de 60^o C) ou frio (abaixo de 10^o C). Esta regra é vital se pretende guardar comida por mais de 4 ou 5 horas. No caso de alimentos para lactentes, o melhor é não guardá-los por qualquer tempo.

5. Reaquecer bem os alimentos cozidos. Um bom reaquecimento implica que todas as partes do alimento alcancem uma temperatura de 70^o C. Esta regra é a melhor medida de proteção contra os microrganismos que podem ter proliferado durante o armazenamento.

6. Evitar a contaminação cruzada. Esta contaminação pode ocorrer pelo contato entre os alimentos crus e os cozidos. Esta contaminação cruzada pode ser direta, como a que ocorre quando a carne crua de frango entra em contato com alimentos cozidos. Assim, por exemplo, não se deve jamais utilizar os mesmos utensílios (como tábuas de corte, facas) que entraram em contato com o alimento cru com o alimento cozido, sem lavar. Isto, pois poderiam reaparecer todos os possíveis riscos de proliferação microbiana e de enfermidade conseqüente do que havia antes de se cozinhar o alimento.

7. Lavar as mãos freqüentemente. Deve-se lavar as mãos antes de se iniciar o preparo dos alimentos e após qualquer. Deve-se lavar as mãos antes de manipular cada alimento diferente.

8. Manter cuidadosamente limpas todas as superfícies da cozinha. Como os alimentos se contaminam facilmente, convém manter-se limpas todas as superfícies utilizadas para prepará-los. Os panos que entram em contato com

pratos ou utensílios devem ser trocados diariamente e fervê-los antes de voltar a usá-los.

9. Manter os alimentos fora do alcance de insetos, roedores e outros animais. Os animais podem transportar microorganismos patogênicos que originam enfermidades alimentares. A melhor medida de proteção é guardar os alimentos em recipientes bem fechados.

10. Utilizar água pura. A água pura é tão importante para a preparação dos alimentos quanto a de beber. Se a fonte de água não é confiável, convém ferver a água antes de utilizá-la nos alimentos ou de transformá-la em gelo para refrescarmos bebidas. Deve-se sobretudo ter cuidado com a água utilizada para o preparo de comida para lactantes.

Assim, utilizando-se destes cuidados ao lidar com alimentos pode-se reduzir os danos que uma contaminação traria ao consumidor.

JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

Com base na revisão da literatura, pode-se observar que há eficácia no uso de proteínas hidrolisadas em preparações que atendam as necessidades requeridas pelas dietas especiais, bem como a dificuldade de acesso pela população de baixa renda às formulações industrializadas direcionadas às crianças com alergia e/ou intolerância ao leite. Além disso, as pesquisas mostram que, existem crianças com reações adversas tanto a proteína do leite de vaca como da soja, mesmo nas fórmulas em que estas estão hidrolisadas, o que dificulta ainda mais a alimentação adequada delas. Existem ainda casos em que até mesmo o aleitamento materno pode ser um risco para o desenvolvimento da atopia. Portanto, o hidrolisado de frango torna-se uma alternativa alimentar inovadora, de baixo custo, sendo uma fonte protéica de baixa alergenicidade, de alto valor biológico e que apresenta boa digestibilidade.

Todos estes fatores justificam a importância do desenvolvimento de novas preparações artesanais que possam contemplar as necessidades nutricionais das crianças de 0 a 12 meses, com o hidrolisado de frango. Estas preparações precisam ter qualidade higiênico-sanitária; evitando maiores agravos à saúde, que poderiam ser causados pelo consumo de alimentos contaminados por microorganismos patogênicos.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Desenvolver e analisar uma fórmula infantil e uma papa de legumes com hidrolisado de frango para crianças de 0 a 12 meses com alergia e/ou intolerância aos leites.

Objetivos específicos:

- Adaptar fórmula infantil e papa de legumes, comumente utilizadas em hospitais, adicionadas de hidrolisado de frango;
- Determinar a composição centesimal e o valor nutricional da fórmula infantil e da papa de legumes desenvolvidas;
- Determinar a composição de ácidos graxos e a viscosidade da fórmula infantil desenvolvida;
- Determinar o pH e a atividade de água da fórmula infantil e da papa de legumes;
- Identificar o atendimento destas preparações às recomendações nutricionais estabelecidas para a faixa etária;
- Verificar a segurança microbiológica das preparações.

METODOLOGIA

4. METODOLOGIA

Este trabalho obteve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública (ANEXO 1).

4.1 Materiais

Para a realização desta pesquisa foi utilizada a carne de frango congelada - corte peito.

A enzima utilizada para a hidrólise da proteína é a bromelina, obtida por meio da extração do suco de abacaxi Pérola fresco e maduro (*Ananas comosus L.*).

Os alimentos utilizados foram adquiridos em supermercados da cidade de São Paulo, considerando-se seu frescor, condições adequadas de armazenamento, prazo de validade e integridade.

As receitas da fórmula infantil e da papa de legumes, foram as propostas por CARAZZA e MARCONDES (1991), apresentadas a seguir:

Fórmula infantil com carne de frango (mamadeira de carne de frango)

Ingredientes (para 1L):

100g de peito de frango

50g de glicose

50g de creme de arroz

1500 mL de água.

Preparo:

Cortar a carne em pedaços

Levar a cocção por 45 minutos (frango e água)

Passar em peneira

Dissolver a glicose e o creme de arroz

Levar a cocção por mais 10 minutos

Completar o volume com água fervida se necessário.

Papa de legumes com carne de frango

Ingredientes:

15g de arroz

50g de batata

50g de cenoura

50g de mandioquinha

50g de frango

Salsa

Sal

Preparo:

Colocar os ingredientes para cozinha, com aproximadamente 1000 mL de água fria e em fogo brando.

Depois de cozidos colocar sal em quantidade suficiente e bater no liquidificador.

O volume final será de aproximadamente 500 mL.

O frango utilizado nestas preparações descritas acima, foi substituído pelo hidrolisado, que foi preparado conforme discriminado a seguir.

Foram utilizados os seguintes utensílios, para a elaboração das preparações, (colheres e xícaras) padrão, multiprocessador, fogão a gás, panelas, liquidificador e geladeira, em condições semelhantes às domésticas.

4.1.1 Local

O hidrolisado e as preparações foram desenvolvidos no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, em condições semelhantes às domésticas.

As análises químicas e de composição centesimal das preparações, foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e no de Propriedades Funcionais dos Alimentos do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. As análises de fibras dos alimentos que foram feitas no

Laboratório de Doces do Instituto Adolfo Lutz e as microbiológicas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública desta mesma universidade.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do Hidrolisado Protéico

A metodologia para obtenção do hidrolisado protéico de frango é a descrita por Pinto e Silva e colaboradores (1999).

4.2.1.1 Preparo da Carne

Foram retirados os tendões, nervos, pele e gordura aparente da carne de frango, que foi fracionada em cubos.

4.2.1.2 Obtenção da enzima

A bromelina do suco de abacaxi é a enzima utilizada para hidrolisar a carne. O abacaxi foi lavado, descascado, fracionado e liqüidificado, depois peneirado.

4.2.1.3 Hidrólise

O frango e o suco foram homogeneizados, em iguais proporções (1 quilo de carne/ 1 litro de suco) em liqüidificador, juntamente com a gelatina em pó sem sabor (6,5g), para atenuar o sabor residual amargo (ATZINGEN 2005).

A mistura foi levada ao banho maria (60° C) por 30 minutos. Após o que, foi colocada em fervura direta por mais 5 minutos e peneirada, estando pronta para o uso. O hidrolisado foi então congelado, em freezer doméstico (-18° C) em pequenas porções e descongelado, em geladeira (4° C) para sua utilização.

4.2.2 Desenvolvimento das preparações

A partir da obtenção do hidrolisado desenvolveu-se a preparação da formulação infantil e da papa de legumes.

O caldo de frango da fórmula foi substituído pelo hidrolisado de frango, e avaliou-se o balanceamento e variação dos ingredientes, principalmente o tipo de amido, a fonte de glicose e de gordura.

Com a utilização do hidrolisado também foi desenvolvida a papa de legumes, se adicionado à água, arroz, batata, mandioquinha, cenoura, couve, sal. Os legumes foram cozidos em água e depois passados em peneira fina.

A definição de papa de legumes de acordo com BERNARDES (1997) é "preparação de consistência líquida ou semilíquida com sabor e valor calórico variáveis".

Realizaram-se diversos testes variando-se a quantidade e o tipo dos ingredientes acrescentados, bem como a quantidade de hidrolisado de frango necessária como substituição da fonte protéica. Os testes visaram obter preparações com hidrolisado que mais se aproximassem do padrão, em consistência, textura, cor, sabor, odor, facilidade no preparo e rendimento. Todas as preparações foram analisadas pela equipe de pesquisa, optando-se pelas receitas que mais atendiam a estes padrões. Foram submetidas às demais análises as selecionadas.

Após a escolha das receitas foi feito o teste de reprodutibilidade, realizando-se três repetições com cada uma das preparações, com pessoas diferentes. A cada três as preparações foram analisadas pela mesma equipe em suas características sensoriais.

4.2.3 Análise Química e da Composição Centesimal das Preparações

Todas as análises foram feitas em triplicata, com o intervalo de 2 meses entre a coleta de cada amostra, por ter sido considerada uma variação na sazonalidade dos ingredientes. O resultado final foi a média das três análises.

4.2.3.1 Umidade

Determinada por gravimetria, depois da secagem das amostras em estufa a 105° C até peso constante, resultando em resíduo seco ou dessecado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.2.3.2 Lipídeos

A fração lipídica foi determinada utilizando-se a técnica de extração com éter etílico em aparelho Soxlet (INSTITUTO ADOLFO LUTZ 1985).

- Ácidos Graxos

Os ácidos graxos da fórmula infantil foram extraídos em coluna seca (MARMER e MAXWELL 1981), segundo o qual adiciona-se em uma coluna de vidro, em camadas, uma mistura de CaHPO_4 (Fosfato de cálcio bifásico) e celite. A amostra é homogeneizada com Na_2SO_4 anidro e celite. A extração dos lipídios ocorreu com os solventes diclorometano-metanol, na proporção 9:1. O extrato da coluna seca foi transferido para o becker e evaporado em nitrogênio, e em seguida, novamente colocado em estufa a 105° C por 3 horas seguido de resfriamento em dessecador e pesagem em balança analítica.

Para a determinação de ácidos graxos a amostra foi saponificada e esterificada com uso de BF_3 (MORRISON e SMITH 1964). As amostras foram

analisadas em cromatógrafo a gás HP 5890 com detector de ionização de chama e integrador HP 3396, com coluna capilar (50m), empacotada com carbofax 20M (HAZTMAN e LAGO 1973).

4.2.3.3 Proteína

As proteínas foram determinadas pelo método micro Kjeldahl, empregando-se o fator 6,25 para o cálculo da proteína (INSTITUTO ADOLFO LUTZ 1985).

4.2.3.4 Cinzas

As cinzas foram determinadas por incineração em mufla a 550°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ 1985).

4.2.3.5 Fibras

Determinação de fibras totais foi obtida a partir da metodologia de GARBELOTTI et al. (2003). A amostra previamente seca e desengordurada, foi suspensa com 40mL de tampão MES-TRIS. Depois submetida à seguinte seqüência de tratamentos enzimáticos: primeiro ação da α -amilase, durante 35 minutos a 100° C; depois da enzima protease por 30 minutos a 60° C, e então, ajustou-se o pH para 4.0 a 4,7, e adicionou-se a amiloglicosidase por 30 minutos a 60° C. Após a precipitação e digestão da fibra, esta foi filtrada com etanol a 95%, utilizando bomba d'água para o vácuo, lavando o resíduo com 2 porções de 15 mL de etanol a 78% e duas porções de 15 mL de acetona. Após a filtração, os cadinhos foram secos em estufa à 105° C, depois esfriados no dessecador e pesados.

4.2.3.6 Carboidratos Totais

Os carboidratos foram determinados por diferença, a partir da soma dos valores de umidade, proteínas, cinzas, lipídeos e fibras totais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ 1985).

4.2.3.7 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado em potenciômetro DMPH-2, com as preparações em temperatura ambiente (INSTITUTO ADOLFO LUTZ 1985).

4.2.3.8 Atividade de água (A_w)

As porções de amostras em triplicata foram homogeneizadas, prensadas em cubetas específicas e submetidas à leitura no medidor automático da marca Aqualab-Decagen Devices Inc., modelo CX-2 (Washington/USA).

4.2.3.9 Viscosidade

A pressão sob cuja ação o líquido passa a fluir fornece a força de cisalhamento, que determinará sua viscosidade (SHAW 1975). Fluidos com viscosidade elevada requerem mais força para mover-se do que materiais menos viscosos (BROOKFIELD 1992).

Utilizou-se reômetro digital modelo DV-III para a determinação da viscosidade da fórmula infantil. Como a viscosidade depende da temperatura, foi uniformizada a temperatura da amostra em 40° C e do probe que entrará em contato com a mesma, utilizando um sistema de circulação de água aquecida. (BROOKFIELD, 1992). A partir do software foi obtida a viscosidade da amostra (Brookfield DV Gather Software).

4.2.4 Valor nutritivo das preparações

Após a realização das análises de composição centesimal foi feita a estimativa do valor energético dos alimentos em 100g, foram empregados os coeficientes de ATWATER (WATT e MERRIL 1963), ou seja, 4 kcal/g para proteínas, 4 Kcal/g para carboidratos e 9 Kcal/g para lipídios.

4.2.5 Adequação de Nutrientes

Para avaliação da adequação à faixa etária de 0 a 12 meses das preparações desenvolvidas, o conteúdo de nutrientes da fórmula infantil deve aproximar-se da composição nutricional do leite materno maduro em relação aos macronutrientes (proteínas, lipídeos e carboidratos). Também foi comparado com as recomendações nutricionais para esta faixa etária da "*The Food and Nutrition Board*", DRI (2002) e do *Codex Alimentarius* para fórmulas infantis (1997). Quanto à papa de legumes com hidrolisado de frango, foi considerada a composição nutricional desta preparação em relação a um produto semelhante existente no mercado, às recomendações nutricionais do mesmo instituto "*The Food and Nutrition Board*", DRI (2002) e do *Codex Alimentarius* para alimentos infantis (1989).

4.2.6 Análise microbiológica

A metodologia utilizada foi a preconizada pela American Public Health Association (APHA) (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992), INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985) e Manual Bergey de Bacteriologia (SNEATH, 1986).

As amostras foram analisadas no Laboratório de Saúde Pública do Departamento de Prática de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Foram analisadas 2 amostras, preparadas em semanas consecutivas (Amostra 1 e 2), em triplicata do hidrolisado de frango, fórmula infantil com hidrolisado de frango e papa de legumes com hidrolisado de frango. As amostras foram coletadas no dia de sua preparação, 72 horas e 504 horas (07 dias), após conservação em temperatura de refrigeração (4-7° C).

As amostras foram preparadas em condições apropriadas de higiene. Os alimentos foram tratados de forma higiênica, segundo as Regras de Ouro da OMS para a preparação higiênica de alimentos (FIGUEIREDO 2003). O frango utilizado no preparo estava congelado, e foi descongelado na geladeira, numa temperatura de 4°C conforme preconizado na CVS 06/1999 (BRASIL 1999). O abacaxi foi obtido em supermercado e mantido sob refrigeração até o momento de ser utilizado, então foi lavado em água corrente e depois descascado.

Para o preparo das amostras de PLHF também, foram respeitadas as normas de boas práticas. Os ingredientes foram adquiridos em supermercado e conservados na geladeira com temperatura de 4° C, até o momento do preparo. Os legumes foram lavados em água corrente, antes de descascados. A hortaliça foi lavada em água corrente, imersa em vinagre a 2%, durante 15 minutos e enxaguada em água corrente (SILVA JR. 2002).

O manipulador dos alimentos lavou as mãos antes do seu preparo e diversas vezes em seu decorrer, com água corrente e sabão. Os cabelos estavam presos com rede, os utensílios utilizados limpos e higienizados com sabão, conforme as regras de boas práticas no preparo de alimentos (BRASIL 1999).

Durante todo o preparo das amostras a temperatura foi controlada, utilizando-se termômetro digital específico para alimentos.

As amostras foram homogeneizadas e diluídas nos caldos específicos estéreis, e os frascos mantidos refrigerados durante o período de análise.

4.2.6.1 Contagem padrão de microorganismos mesófilos

Realizou-se através da contagem padrão em placas (CPP) utilizando água peptonada 0,1% (AP 0,1%) (Bacto peptone Merck) e o meio Plate Count Agar para o plaqueamento (PCA Merck), sendo as placas posteriormente incubadas a 35°C/48 horas (ANEXO 2).

4.2.6.2 Coliformes termotolerantes

A determinação do Número mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes a 45° C, foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos com diluições seriadas de 10⁻¹ até 10⁻⁸ em água peptonada 0,1%. O pré-enriquecimento para o grupo de coliformes foi realizado em meio LST a 35°C por até 48hs onde foram considerados como positivos os tubos apresentando turvação e formação de gás. A determinação dos coliformes termotolerantes foi realizada através da transferência de uma alíquota das amostras pré-enriquecidas e que foram positivas no caldo LST para tubos contendo meio EC e incubados por até 48 horas a 45°C. Os tubos que apresentaram turvação e presença de gás foram utilizados para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes e os resultados foram expressos em organismos por grama de amostra (NMP/g). A pesquisa de *E. coli* foi realizada para as amostras que apresentaram resultados positivos para os coliformes termotolerantes através do isolamento em Agar Eosina Azul de Metileno (Levine EMB Agar). As colônias

características foram submetidas à confirmação bioquímica utilizando o meio de Rugai modificado (IAL) (ANEXO 3).

4.2.6.3 *Staphylococcus Aureus*

A pesquisa de *S. aureus* foi realizada através da contagem em placas estimativa do número de UFC /g de alimento, a partir das diluições seriadas em água peptonada 0,1%. Para o isolamento desses organismos foram semeados 100 µL de cada uma das diluições para três placas de petri contendo Agar Baird Parker que foram incubadas por 48 horas a 37°C. As colônias características foram contadas e triadas pela coloração de Gram, pelo teste de catalase e DNase (SIQUEIRA, 1995) (ANEXO 4).

4.2.6.4 *Salmonella* spp.

As amostras foram pré-enriquecidas em Caldo Lactosado (LB) incubado a 35°C/18-20 horas. Após o período de incubação uma alíquota de 1 mL do primeiro enriquecimento foi transferida para o segundo enriquecimento: Caldo Tetratonato e Caldo selenito-cistina (SCB) os quais foram incubados a 35°C/24h. Para o plaqueamento diferencial foram utilizados os meios: Ágar Sulfito de Bismuto (BSA) e Ágar Salmonella-Shigella (SS). As colônias sugestivas de *Salmonella* foram caracterizadas fenotipicamente com a utilização do meio IAL (ANEXO 5).

4.2.6.5 *Bolores e Leveduras*

Foi realizada uma diluição seriada da amostra até 10^{-8} em Água Peptonada 0,1%, 100 mL de cada uma das diluições foi transferido para o meio de cultura Ágar Padrão adicionado de Cloranfenicol (100 mg/dL), em triplicata. Estas placas

foram incubadas a 25° C durante 5 dias (SILVA et al. 1997). As colônias foram contadas nas diluições em que havia crescimento entre 30 e 300 colônias e foi considerado como valor de resultado a média das colônias observadas considerando a diluição em questão (ANEXO 6).

4.2.6.6 Padrão microbiológico

A qualidade microbiológica das amostras tem como parâmetro de análise os Padrões Microbiológicos Sanitários, para alimentos infantis, contidos na Resolução RDC nº 12 de 02 de Janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL 2001).

4.2.7 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como médias e desvio-padrão.

A análise estatística dos resultados obtidos na composição centesimal para umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foi realizada a partir da média dos valores obtidos em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento das formulações com hidrolisado de frango

Foram realizados diversos testes da formulação com hidrolisado de frango (FIHF) e da papa de legumes com o hidrolisado (PLHF). A cada teste as preparações foram avaliadas sensorialmente pela equipe de pesquisa.

As diferentes combinações de ingredientes e quantidades da fórmula infantil com hidrolisado de frango (FIHF) estão apresentadas na tabela 1. O rendimento da preparação é de 1 litro.

Tabela 1: Ingredientes da fórmula infantil com hidrolisado de frango (FIHF) (valores apresentados em gramas).

Água 800 mL Fórmulas	Hidrolisado de frango (g)	Creme de Arroz (g)	Arrozina (g)	Amido de milho (g)	Fécula de Batata (g)	Óleo de girassol (g)	Glicose de milho (g)	Sacarose (g)	Baunilha (g)	Carbonato de cálcio (g)	Banha de Porco c/ óleo de soja (g)
F1	100	50	-	-	-	-	50	-	-	-	-
F2	125	-	30	-	-	8	84	-	-	-	-
F3	121	50	-	-	-	8	84	-	-	-	-
F4	140	50	-	-	-	8	50	-	4	5,3	-
F5	110	30	-	-	-	20	60	-	4	2,06	-
F6	110	-	-	30	-	20	60	-	4	3,0	-
F7	60	-	-	-	30	20	60	-	4	3,0	-
F8	60	40	-	-	-	-	60	-	4	1,0	26
F9	80	30	-	-	-	-	20	30	4	2,0	36

Conforme se observa na tabela 1 o primeiro teste realizado, F1, foi a substituição do caldo de frango, pelo hidrolisado, adicionando-se os demais ingredientes. Resultando, entretanto numa preparação com sabor residual amargo, não observado quando do uso do caldo.

Os testes seguintes visaram a obtenção de uma fórmula com sabor agradável e adequada à quantidade de nutrientes, principalmente de gordura e proteína, de modo que atendesse às necessidades nutricionais das crianças de 0 a 12 meses.

A fim de determinar qual o melhor ingrediente a ser utilizado como fonte de amido e espessante na FIHF, foram testados, arrozina (F2), o creme de arroz (F3, F4, F5, F8 e F9), o amido de milho (F6) e a fécula de batata (F7), e o melhor resultado apresentado, devido ao sabor e à textura, foi o amido proveniente do arroz.

No decorrer dos testes para escolha do tipo de amido, avaliou-se também o tempo de cocção e a técnica de preparo, verificando-se que em 10 minutos de fervura em fogo brando, com agitação, ocorre a gelatinização do amido, ou seja, sua total cocção, e a FIHF adquire a consistência de um mingau. Assim, ao completar-se com água para obtenção de 1 litro de volume final, a consistência torna-se mais líquida. O processo de gelatinização do amido ocorre por ação do calor e presença de água, rompendo as pontes de hidrogênio, esta reação agiliza o processo de digestão, por facilitar a ação das enzimas digestivas sobre o amido (ORNELLAS e ORNELLAS 2001).

No estudo de VESA et al. (1997) também se utilizou o amido do arroz para espessar o leite, indicando que este é um produto adequado ao uso de em fórmulas infantis. Portanto, a proporção de 30g de creme de arroz e a cocção de 10 minutos é adequada para que a FIHF esteja com o sabor e a consistências adequadas ao consumo.

A gordura é a principal fonte de energia no leite humano e na maioria das fórmulas infantis (CARNIELLI et al. 1995). Assim, com base em estudos científicos, verificou-se que o tipo de gordura adicionada nas fórmulas infantis é muito importante, ela precisa ter uma conformação de ácidos graxos semelhantes ao leite materno, para facilitar sua absorção. A mistura de banha de porco com óleo de soja, na proporção de 80/20 é considerada muito semelhante à do leite materno em sua composição de ácidos graxos, segundo SILVA e GIOIELLI (2005).

Com a substituição do caldo de frango pelo seu hidrolisado, foram testadas diferentes fontes de glicose, para a melhoria do sabor, como a sacarose, e combinação de sacarose com a glicose de milho, que já era utilizada na fórmula padrão. A junção da glicose de milho e sacarose foi escolhida por ser a que melhorou o sabor da preparação. Segundo ORNELLAS e ORNELLAS (2001) a glicose e a sacarose são as fontes de açúcar muito em fórmulas infantis.

Em relação ao aporte de cálcio, que é um mineral importante ao lactente para o desenvolvimento normal de ossos e dentes, cuja necessidade diária é de 800 mg (NRC 2000), foi necessário adicionar à FIHF este nutriente, pois nenhum de seus ingredientes é fonte dele.

Diversos fatores afetam a biodisponibilidade do cálcio como o conteúdo de vitamina D, fósforo e a proteína. No leite materno o cálcio está ligado a proteínas séricas de baixo peso molecular, já no leite de vaca ele está junto à caseína, que é uma proteína de maior peso molecular (ROIG et al. 1999). Segundo o *Codex Alimentarius* (1997), uma boa fonte de adição de cálcio em alimentos infantis, e fórmulas de substituição do leite é o carbonato de cálcio. Assim, na FIHF, utilizou-se o carbonato de cálcio para contribuir no fornecimento desse nutriente.

Fórmulas infantis hipoalergênicas, ou seja, com proteínas extensivamente hidrolisadas contém 51,2mg/100mL de cálcio, enquanto no leite materno há 29,3mg/100mL (ROIG et al. 1999). Na tabela 1 nota-se que a FIHF contém 2,0g/L de carbonato de cálcio, isto representa 80mg/100mL de cálcio, ou seja, atinge a recomendação.

As diferentes combinações de ingredientes para obtenção da papa de legumes com hidrolisado de frango (PLHF) estão apresentadas na Tabela 2. A preparação rende uma porção de 150g, o que corresponde à quantidade suficiente para a refeição de uma criança acima de 6 meses (CTENAS e VITOLLO 1999).

Tabela 2: Distribuição em ingredientes da papa de legumes com hidrolisado de frango, valores expressos em gramas.

	Hidrolisado de frango (g)	Água (g)	Sal (g)	Batata (g)	Mandioquinha (g)	Cenoura (g)	Couve manteiga (g)	Banha de porco com óleo de soja (g)	Óleo de soja (g)	Arroz (g)
P1	43	500mL	2,6	50	50	50	-		26,2	15
P2	25	400mL	2,4	50	50	50	-		26	15
P3	25	400mL	2,4	50	50	50		26		15
P4	25	400mL	2	50	50	50	35	-	26	-
P5	18	200mL	2	-	40	25	30	-	6	-

Conforme se pode notar na tabela 2, na PLHF, que teve como base a receita de papa de legumes com frango, proposta por CARAZZA e MARCONDES (1991), utilizou-se concentrações variadas de hidrolisado de frango, bem como a combinação de diferentes legumes e verduras. Esta mistura de ingredientes atende ao que diversos autores indicam como combinações de alimentos que devem compor uma papa salgada para crianças, a mistura de uma proteína de origem animal com um tubérculo ou raiz, um legume, óleo de soja e uma hortaliça (MS/OPAS/OMS 2002; CTENAS e VIITOLO 1999; ORNELLAS e ORNELLAS 2001).

A escolha dos ingredientes finais para compor a PLHF, tabela 2, baseou-se na combinação que proporcionou a obtenção de uma preparação de consistência e sabor agradáveis.

A consistência dos alimentos oferecidos é muito importante para estimular a mastigação, também porque alimentos mais espessos, ou de forma menos diluída, têm uma densidade energética maior. Assim, a técnica correta de preparo de papas infantis é cozinhar bem os ingredientes até deixá-los bem macios e depois amassar com um garfo ou utilizar peneira grossa e não liquidificar (MS/OPAS/OMS 2002).

Depois do estabelecimento e redação final das receitas das preparações, realizaram-se os testes de reprodutibilidade das mesmas. As conclusões foram que, as receitas eram reprodutíveis, obtendo-se alimentos com as mesmas características, preparados por pessoas diferentes.

5.2 Determinação do pH, atividade de água e viscosidade das preparações com hidrolisado de frango

A partir do estabelecimento das receitas, determinaram-se as características químicas das preparações. A tabela 3 apresenta os resultados da análise do potencial hidrogeniônico das mesmas.

Tabela 3: Média do potencial hidrogeniônico (pH)

Amostra	PH	Desvio Padrão
Hidrolisado de frango	5,50	0,00
Fórmula infantil com hidrolisado de frango	6,50	0,02
Papa de legumes com hidrolisado de frango	5,50	0,01

(n=3)

O pH dos alimentos pode influenciar no favorecimento ou não do crescimento e desenvolvimento de bactérias, fazendo parte dos fatores intrínsecos ao alimento que interferem no metabolismo dos microorganismos. Na tabela 3 observa-se que o hidrolisado de frango e a PLHF tem o mesmo pH, 5,5, e a FIHF tem um pH mais alcalino de 6,50.

A acidez de um alimento é importante para evitar irritabilidade da mucosa do trato gastrointestinal, assim pode-se comparar o pH da FIHF (6,50), com o do leite de vaca, um alimento muito consumido por lactentes sem reações adversas, que é de aproximadamente 6,65 (NELSON et al. 2004). Com isto, pode-se observar que são valores muito próximos, e assim, provavelmente o consumo FIHF não trará nenhum dano ao lactente, em relação ao seu pH.

Para o crescimento de bolores e leveduras o pH ideal é de 5,5. Já a maioria das bactérias se desenvolve num pH quase neutro, em torno de 6,6 a 7,0, assim alimentos que tem um pH abaixo deste tendem a manter a qualidade microbiológica por mais tempo (SILVA JUNIOR 2002; ADAMS e MOSS 1997). Assim, em relação ao pH das preparações desenvolvidas neste trabalho, a que apresenta um valor mais próximo ao da faixa de risco de crescimento bacteriano é a FIHF (Tabela 3), porém, tanto o hidrolisado quanto a PLHF tem um pH adequado, contribuindo para a manutenção da qualidade dos alimentos.

A maioria das bactérias deteriorantes cresce em $A_w > 0,91$ e as patogênicas em $A_w > 0,94$, com exceção do *S. aureus* que se desenvolve em $A_w > 0,86$. A capacidade de desenvolvimento de microorganismos é reduzida numa A_w mais baixa. A temperatura ótima de crescimento pode prolongar a faixa de atividade de água na qual ocorre o crescimento. Assim, vários fatores em conjunto precisam ser analisados (JAY 2000).

A atividade de água também faz parte dos fatores intrínsecos que contribuem para o desenvolvimento microbiológico nos alimentos. Assim, considerou-se importante determinar a atividade de água da fórmula infantil com hidrolisado de frango ($A_w = 0,973$) e da papa de legumes com hidrolisado de frango ($A_w = 0,972$).

O leite de vaca tem uma atividade de água em torno de 0,990 a 0,980 (IAMFES 1991) e observa-se que tanto a FIHF como a PLHF apresentam valores próximos ao do leite. Estes resultados mostram a necessidade da atenção no preparo e manipulação destes alimentos, pela sua perecibilidade, pois os microorganismos *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *E. coli*, *Shiguella*, *B. cereus*, *Clostridium*, *S. aureus*, crescem lentamente ou param sua produção nesta atividade de água (SILVA JR. 2002).

As bactérias preferem ambientes úmidos para seu crescimento, já os bolores e leveduras proliferam em ambientes mais secos (JAY 2000). Com isto, nota-se que

tanto a FIHF como a PLHF, que tem uma A_w em torno de 0,97, são mais diluídas do que a faixa ótima para crescimento de bactérias patogênicas, o que provavelmente é um fator de risco que favoreceria a proliferação de microorganismos.

Assim, tanto em relação ao pH como à A_w , a FIHF possui faixas de risco para o crescimento de microorganismos patogênicos, já a PLHF, possui um pH que não favorece este desenvolvimento, porém uma A_w semelhante à da FIHF. Com isto, faz-se de extrema necessidade um controle das boas práticas de higiene, no preparo e manipulação destes alimentos, bem como, do tempo e da temperatura de sua cocção e armazenamento para a redução destes riscos (JAY 2000).

Em relação a uma propriedade física da FIHF, a figura 1 mostra a sua viscosidade (mPas) versus a velocidade de cisalhamento, medida em rotações por minuto (RPM).

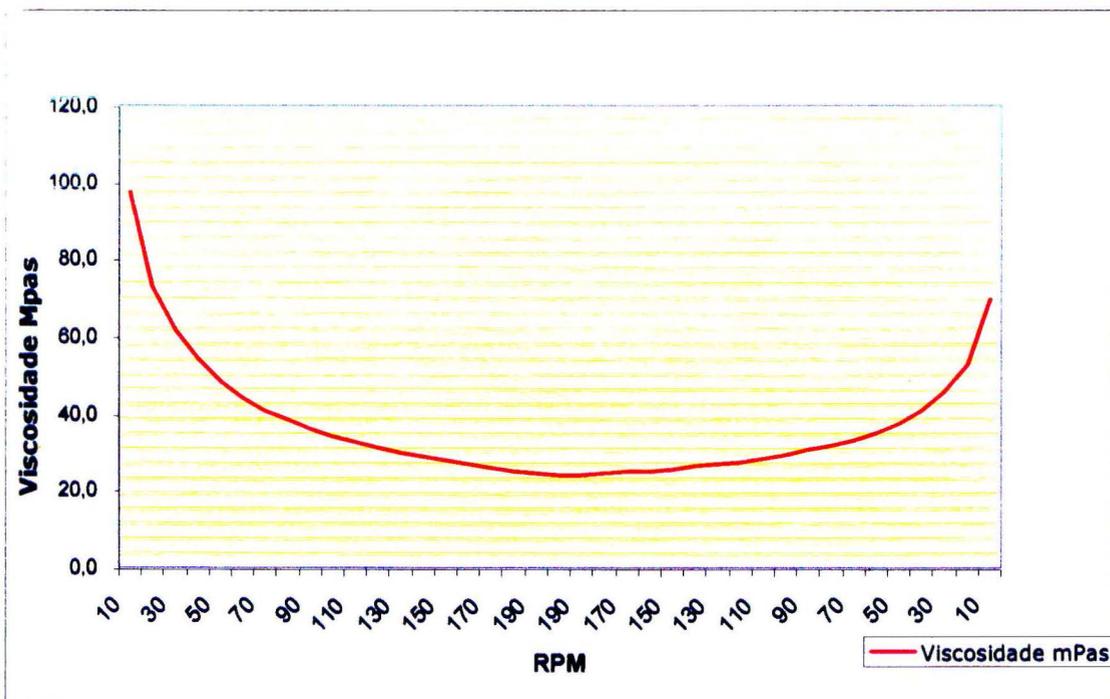


FIGURA 1: Viscosidade (Mpas) da Fórmula infantil com hidrolisado de frango, de acordo com a variação da velocidade de cisalhamento (RPM).

Há importância em mensurar a viscosidade da FIHF, para verificar se esta será suficiente, a ponto de exigir uma força de sucção do bebê. A sucção pela criança é muito importante no seu desenvolvimento cognitivo (WATERLAND et al. 1998), de modo que promover esta atividade, foi uma preocupação no desenvolvimento da FIHF.

A viscosidade é uma força volumétrica de atrito interno que aparece no deslizamento de camadas fluindo umas sobre as outras, dando origem a tensões tangenciais de cisalhamento. Com isso, o atrito interno oferece uma resistência ao escorregamento das partículas, umas sobre as outras (BROOKFIELD 1992).

Na figura 1 nota-se que a viscosidade inicial da FIHF foi de 97,3 mPas, em 10 RPM e 40° C, com 200 RPM, e mesma temperatura, a viscosidade cai para 23,8 mPas, e ao final do experimento, novamente com 10 RPM a viscosidade foi de 69,8 mPas. Com isto observa-se FIHF é um alimento pseudo-plástico, de comportamento não newtoniano, ou seja, quando submetido à taxa de cisalhamento, ou aumento da velocidade (RPM), há uma redução da viscosidade. Assim, teoricamente quanto maior a força de sucção do bebê maior será a quantidade de alimento ingerido.

A tixotropia ocorre quando a viscosidade do líquido diminui com o tempo de cisalhamento (BROOKFIELD, 1992). Assim, observa-se, na figura 1 que há um novo aumento da viscosidade do alimento com a redução das RPMs, evidenciando um comportamento não tixotrópico.

A viscosidade média da FIHF é de 36,9 mPas. VESA et al. (1997), utilizou uma fórmula infantil, com leite de vaca, baixa viscosidade; 30 mPas, e alta viscosidade; 1900 mPas, na alimentação de crianças com intolerância à lactose, e concluíram que o aumento da viscosidade das fórmulas à base de leite, não afetou o tempo de esvaziamento gástrico. A FIHF apresentou valor médio de viscosidade semelhante ao

de VESA et al. (1997), assim, pode ser considerá-la uma formulação com baixa viscosidade.

Segundo PHILLIPS et al. (1995) a viscosidade média do leite de vaca é de 5 mPas. Assim, nota-se que apesar da FIHF ser considerada um líquido de baixa viscosidade, em relação ao leite de vaca, esta se apresenta mais viscosa. Porém, normalmente o leite de vaca é oferecido à criança adicionado de um amido, engrossante, o que aumenta sua viscosidade.

A viscosidade de uma fórmula infantil, e a força de sucção empregada pela criança para consumi-la, dependem de uma série de variáveis. Dentre elas a temperatura em que o alimento será oferecido, visto que, quanto menor a temperatura, mais viscoso se torna um líquido (BROOKFIELD 1992). Assim, recomenda-se a temperatura em torno de 35 a 40° C, para manter a viscosidade desejada.

Outro aspecto é o diâmetro ou espessura do orifício do bico da mamadeira utilizado, que oferece uma resistência ao fluxo de líquido. Portanto, quanto maior for este, também será o escoamento do alimento para a boca da criança, e menor será a necessidade de sucção. Com isto, como se trata de um alimento considerado de baixa viscosidade, recomenda-se o uso de um bico de mamadeira com um orifício de diâmetro pequeno, ou seja, os indicados pelo fabricante como próprios para o consumo leite em pó, ou fórmulas infantis, sendo que, os furos não devem ser aumentados (WATERLAND 1998).

Ainda outro aspecto, que influencia na viscosidade do alimento, é a quantidade de FIHF colocada dentro da mamadeira, o que aumentará ou diminuirá a pressão de saída do líquido. Assim, deve-se utilizar mamadeiras com a capacidade completa, ou seja, se a criança for capaz de consumir 120 mL a cada mamada, usar um recipiente

com esta capacidade cheia e não um de 300mL, pela metade, o que reduziria a pressão e aumentaria o fluxo de líquido (SCHRANK et al. 1998).

Portanto, nota-se que a FIHF tem uma viscosidade semelhante à de outras fórmulas infantis, consideradas de baixa viscosidade. Mas, para a determinação da força de sucção da criança, outras variáveis precisam ser consideradas, com a temperatura do alimento, o tamanho do orifício do bico da mamadeira e a quantidade de líquido dentro do frasco, o que altera sua pressão.

5.3 Composição centesimal das preparações com hidrolisado de frango

Realizaram-se os testes em três épocas diferentes do ano, para levar em consideração as diferenças de sazonalidade no valor nutricional das preparações. A tabela 4 apresenta os resultados da composição nutricional da fórmula infantil com hidrolisado de frango (FIHF) e da papa de legumes do hidrolisado de frango (PLHF).

Tabela 4 – Composição centesimal da Fórmula Infantil com Hidrolisado de Frango (FIHF) e da Papa de Legumes com Hidrolisado de Frango (PLHF), média e desvio padrão, em g por 100g de alimento.

	FIHF (g)	PLHF (g)
Umidade	88,00 (0,27)	81,87 (1,10)
Cinzas	0,23 (0,01)	2,17 (0,27)
Proteína	1,32 (0,30)	2,84 (0,71)
Lipídeos	3,12 (0,16)	3,71 (0,28)
Carboidrato*	6,53 (0,50)	7,81 (0,53)
Fibras	0,80 (0,01)	1,59 (0,14)

- Carboidrato estimado por diferença (n=3)

Considera-se como premissa o fato de que a composição nutricional do leite materno é um dos padrões de referência para a elaboração e qualificação de fórmulas infantis, visto que as crianças absorvem e usam adequadamente os seus macronutrientes (ROIG et al. 1999). Conforme a tabela 4, observa-se que a FIHF contém em média 1,32g/100mL de proteína, valor superior ao do leite materno que é de 0,8 a 1,0g/100mL (LÖNNERDAL e FORSUM 1985). Desta forma, pode-se constatar que, em relação ao leite materno, a FIHF atende as necessidades protéicas da criança, ultrapassando em 0,32g/100mL a sua quantidade média.

A composição de proteínas do leite materno é única, e até hoje não foi possível reproduzi-la em fórmulas infantis, tanto em qualidade como em quantidade (RÄIHÄ et al. 2002). Apesar de a FIHF conter uma quantidade maior de proteínas do que o leite materno, ela equipara a outros parâmetros em relação a isto, discutidos a seguir.

Considerando-se que na faixa etária de 0 a 5 meses, o volume gástrico (100 a 150mL) e o número de refeições por dia (6-8), o consumo médio diário de FIHF, seria de 800mL (MS/OPAS/OMS 2002; WATERLOW e THOMSON 1979). As recomendações nutricionais da DRI (2002) de proteína para crianças de 0 a 5 meses, são de 9,1g/dia. Assim, o consumo diário de 800mL de FIHF fornece um total de 10,56g de proteínas, atendendo em 116% o estabelecido pela DRI. Assim sendo, nota-se igualmente o que acontece com o leite materno, em relação à proteínas esta formulação atende e ultrapassa as recomendações nutricionais estabelecidas para a primeira faixa etária.

O requerimento de proteína em crianças alimentadas com fórmulas é mais apropriadamente expresso como quantidade de proteína por energia (FOMON et al. 1999). O *Codex Alimentarius* que foi criado pela FAO e pela OMS é uma referência global para os órgãos governamentais relacionados com o controle de alimentos e para o comércio internacional. É uma das prioridades do *Codex Alimentarius* proteger a

saúde do consumidor, relacionada com a segurança e a adequação do alimento ao consumo.

A norma do *Codex Alimentarius* para fórmulas infantis (1997), estabelece que 100Kcal deste alimento deve conter de 1,8 a 4g de proteínas. A FIHF contém 2,21g, ou seja, dentro do recomendado pelas referências internacionais de qualidade de alimentos.

De acordo com RÄIHÄ et al. (2002), a maioria das fórmulas infantis comercializadas hoje tem 2,2g/100Kcal de proteínas. A Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica propõe uma quantidade entre 1,8 e 2,8g/100 kcal de proteínas em fórmulas infantis, já a o Comitê de Nutrição da Academia Americana de Pediatria estabelece um intervalo maior de 1,8 a 4,5g/100 kcal. Comparando-se a albumina e a uréia séricas de crianças que consomem leite materno ou fórmula infantil com 1,8g/100 kcal de proteína ou fórmula infantil com 2,2g/100 kcal de proteína, nota-se que não houve diferença entre os tres grupos e que os valores encontrados foram considerados normais (RÄIHÄ et al. 2002). Assim, o consumo de FIHF não seria contra-indicado.

As fórmulas infantis são a principal fonte de proteína até os seis meses de vida em crianças impossibilitadas de serem amamentadas (MAHAN E ESCOTT-STUMP 2002). Assim, considerando-se todas as recomendações de proteínas estabelecidas e a composição do leite materno, nota-se que a FIHF está adequada em relação ao seu conteúdo de proteínas, e segura para o consumo de crianças de 0 a 5 meses.

Na FIHF a fonte de proteína é o hidrolisado de frango, considerado uma proteína de alto valor biológico, ou seja, fornece todos os aminoácidos essenciais, portanto, de boa qualidade. Também, o frango é um alimento de baixa alergenicidade,

assim sendo é uma alternativa alimentar de baixo risco para a população de crianças com reações adversas aos leites (ANGELLIS 2005).

O leite materno contém 4,5g de lipídeos por 100mL, e a FIHF uma quantidade inferior de 3,12g/100mL (Tabela 4).

O *Codex Alimentarius* (1997) designa que fórmulas infantis devem conter de 3,3 a 6g de lipídeos a cada 100 Kcal. A FIHF tem 5,2g/100Kcal de lipídeos, assim atende à legislação internacional de composição de alimentos.

Já em relação ao estabelecido pela DRI (2002), que refere um consumo médio diário de 31g de gordura para crianças de 0 a 5 meses, com a ingestão média de 800 mL/dia de FIHF, atinge-se 25g, ou seja, 80,5% desta recomendação.

Os lipídeos constituem uma parte importante do leite, sendo a sua principal fonte de energia. Ingestões menores deste nutriente podem resultar num consumo inadequado de energia e o lactente pode corrigir esta deficiência aumentando o volume de alimento consumido (MAHAN e ESCOTT-STUMP 2002). Um estudo sobre a dieta de crianças com alergia ao leite de vaca mostrou que elas consomem 47g de gordura por dia, quantidade esta maior do que a do grupo controle, entretanto, em ambos os grupos, o consumo de gordura era inferior à recomendação nutricional das DRIs (2002), apesar disso não foram constatadas deficiências no estado nutricional das crianças estudadas (TIAINEN et al. 1995). Com isto, pode-se concluir que a quantidade de lipídeos da FIHF está de acordo com o estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (1997).

Em relação aos carboidratos no leite materno a proporção é de 7,0g/100mL (LÖNNERDAL e FORSUM, 1985) e na FIHF há uma quantidade próxima, de 6,53g (Tabela 4).

A recomendação da DRI (2002) é de uma ingestão diária de carboidratos é de 60g para crianças de 0 a 5 meses; e o consumo médio diário de 800mL de FHF aporta, 52,24g, ou seja, 87,06% desta. Não existe uma recomendação do *Codex Alimentarius* (1997) estabelecida para a quantidade de carboidratos em fórmulas infantis.

A FHF atende às recomendações do *Codex Alimentarius* (1997), em relação à quantidade de proteínas e gorduras, e se aproxima em 93,8% a quantidade de carboidratos do leite materno. Conforme as recomendações estabelecidas, a FHF atende às necessidades do lactente, fazendo-se uma ressalva da necessidade da individualização da dieta, em relação à quantidade de alimento, de acordo com cada lactente.

Outro nutriente importante que foi analisado neste trabalho são as fibras. Nota-se na tabela 4 que a FHF contém 0,8g de fibras por 100g, assim, em 800mL/dia consumidos por crianças de 0 a 5 meses fornece 6,4g de fibras totais.

Segundo EDWARDS e PARRET. (2003), há pouca informação a respeito do consumo de fibras na infância, o que levou a recomendações superestimadas. Nos Estados Unidos da América os níveis sugeridos de consumo são a idade em anos mais 5g de fibras/dia (DWYER citado por EDWARDS e PARRET 2003), ou seja, durante o primeiro ano de vida a recomendação diária seria de 5g de fibras. De acordo com esta recomendação a FHF supre as necessidades da criança.

A fibra tem importante papel na formação da microflora bacteriana intestinal da criança, que se desenvolve devagar e em resposta à dieta. O estudo de ALEXY et al. (2006) que avaliou o consumo de fibra dietética da infância à adolescência, observou um significativo aumento na sua ingestão no primeiro ano de vida, que se manteve constante durante o período de transição da dieta, e diminuiu com a adolescência; mas

que ainda faz necessário o estabelecimento de um valor de referência para o consumo por crianças. A DRI (2002) não apresenta recomendação nutricional de fibras para crianças com idade menor que 12 meses.

Além dos macronutrientes, responsáveis pelo fornecimento de energia e proteínas que asseguram o ganho de peso e crescimento adequados os lactentes têm a necessidade de diversas vitaminas e minerais. Porém, dada a sua importância, há necessidade do uso de suplementos vitamínicos e minerais, recomendados pelo pediatra para as crianças que vierem a alimentar-se com FIHF.

A *American Academy of Pediatrics* recomenda uma suplementação de vitaminas a todos os bebês, mesmo os amamentados com leite materno. O leite humano contém aproximadamente, 0,01µg/100mL de vitamina D, e a necessidade diária da criança a termo é de 0,6-1,9µg/Kg de peso/dia (GARTNER et al. 2003). O estudo de TIAINEN et al. (1995), que avaliou o consumo dietético de crianças alérgicas ao leite de vaca, mostrou uma inadequação na ingestão total de vitamina D, e que foram utilizados suplementos vitamínicos para atender as suas necessidades.

O ferro é um mineral importante para o lactente, porque a anemia ferropriva ainda é um problema de saúde pública. A necessidade diária de ferro do bebê de 0 a 05 meses é de 6mg e de 6 a 12 meses de 10mg (OLIVERIA e OSÓRIO 2005). Assim, recomenda-se uma avaliação da necessidade de suplementação deste nutriente.

Há necessidade de individualização da dieta e cabe à equipe que faz o acompanhamento da criança, seja médico, enfermeira ou nutricionista, adaptar a quantidade de alimento recebida às condições individuais. A partir de 06 meses de idade necessita-se a introdução de outros alimentos para complementar a dieta (MS/OPAS/OMS 2002); como a papa de legumes.

A tabela 4 mostra a composição nutricional da PLHF. O esquema alimentar recomendado para crianças que são alimentadas com fórmulas, é que com cinco meses a criança consuma uma papa de frutas, nos intervalos entre as mamadas, e aos seis meses a introdução da papa salgada uma vez ao dia e com oito meses duas vezes ao dia (CTENAS e VITTOLO 1999; MS/OPAS/OMS 2002).

A composição de ingredientes da papa salgada precisa conter uma hortaliça, uma raiz ou tubérculo ou legume e uma fonte de proteína e gordura. Os alimentos devem ser bem cozidos, e amassados com garfo, para estimular a mastigação, de modo que fique consistente, em forma de purê grosso (MS/OPAS/OMS 2002; CODEX 1989).

Na tabela 4 nota-se que a PLHF contém 2,84g de proteína por 100g. A recomendação da DRI (2002) é de um consumo de 14g/dia para crianças de 06 a 12 meses, assim o consumo médio de 300g/dia de PLHF atende a 60,8% da recomendação. Valor próximo ao das papas de legumes com frango, comercializadas, em relação à proteína, visto que este contém cerca de 3,47g de proteína por 100g.

Em relação à quantidade de lipídeos, nota-se na tabela 4, que a PLHF contém 3,71/100g, o que corresponde a 37,1% das recomendações da DRI (2002) para crianças de 6 a 12 meses, que é de 10g/dia. Enquanto que, o produto semelhante comercializado contém 2,61/100g de lipídeos, ou seja, menos que a PLHF.

O consumo de 300g de PLHF, o correspondente a duas refeições, por dia atende a 24,66% (23,4g) da recomendação da DRI (2002) de carboidratos/dia para crianças de 6 a 12 meses. O produto semelhante existente no mercado contém 9,56/100g deste nutriente, quantidade superior ao da PLHF, de 7,81/100g (Tabela 4).

A quantidade de fibras totais fornecidas pelo consumo recomendado da PLHF, de 300g, é de 4,77g. Assim, a papa de legumes atende a recomendação americana, de 5g de fibra total ao dia, para crianças de até 1 ano de idade.

Até os 12 meses de idade indica-se cerca de 750mL (3 vezes de 250mL) de consumo de FIHF, além das demais refeições no dia. Acrescido à quantidade de proteína consumida pela criança com a PLHF, totalizaria 18,42g dia, ou seja, supre a recomendação DRI (2002).

As recomendações nutricionais da criança são atendidas não só pelo consumo da FIHF e da PLHF, mas também com a ingestão de frutas e cereais de acordo com o esquema alimentar. A PLHF é um alimento nutritivo, podendo ser uma boa alternativa na alimentação salgada de crianças de 06 a 12 meses de vida.

Na tabela 4, nota-se que os desvios padrões foram baixos, para as preparações, em todos os nutrientes, evidenciando que a interferência da sazonalidade dos ingredientes foi pequena.

Em relação ao valor nutricional, aplicando-se o coeficiente de ATWATER (WATT e MERRIL 1963), nos macronutrientes encontrados, obtêm-se a seguinte distribuição, conforme mostra a figura 2.

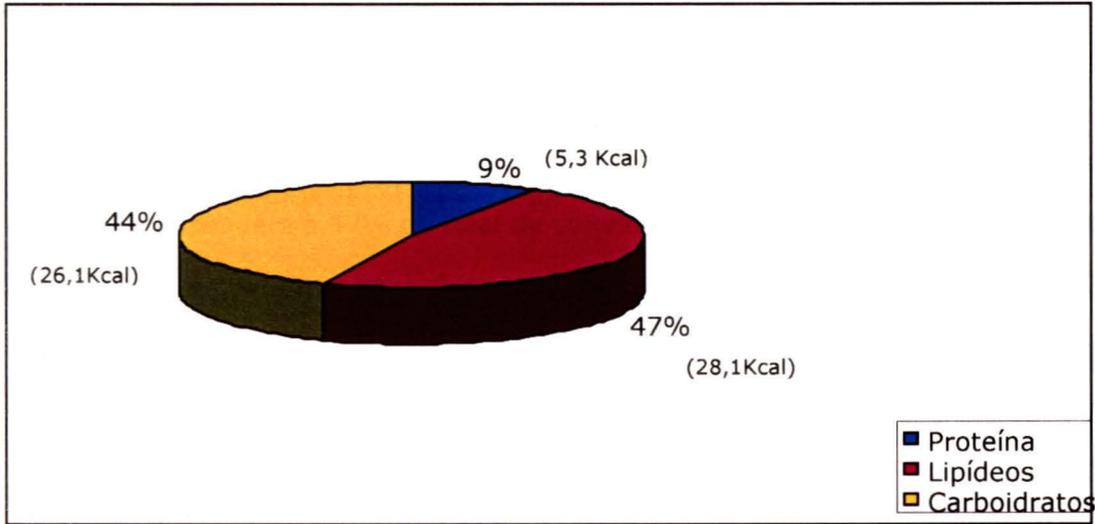


Figura 2: Distribuição de macronutrientes (%) na Fórmula Infantil com Hidrolisado de Frango, valores expressos em calorias.

Em 100g a FIHF fornece 59,5 Kcal à criança, e o leite materno 75 Kcal por 100mL (LÖNNERDAL e FORSUM 1985), assim, a densidade calórica da FIHF corresponde a 79,3% do leite materno. Para completar a necessidade provavelmente haverá um auto-ajuste da quantidade de alimento consumida pela criança (RÄHYÄ 2002). A DRI (2002) recomenda a ingestão de 650Kcal/dia para crianças de 0 a 5 meses e o consumo de 800mL de FIHF ao dia, fornecerá cerca de 480 kcal, ou seja, abaixo da indicação. Para o atendimento da densidade energética seria necessário aumentar a quantidade de gordura na fórmula, o que alteraria muito seu sabor, homogeneidade e viscosidade.

A adequação do consumo energético da criança deverá ser monitorada pela equipe que a acompanha através da aferição periódica do peso e estatura. Caso estes estejam abaixo do esperado, há necessidade de verificação as causas, que podem estar relacionadas a episódios de doenças infecciosas ou à dieta. Constatando-se

deficiência no consumo de alimentos é necessário fazer os ajustes na dieta para sua adequação (CTENAS e VITOLO 1999, MAHAN e ESCOTT-STUMP 2002).

A figura 2 mostra a distribuição de macronutrientes da FIHF, sendo que os lipídeos correspondem a 47% do total de calorias. Recomenda-se que a quantidade de lipídeos deve estar entre 30 a 54% das calorias (MAHAN e ESCOTT-STUMP 2002). Assim, nota-se que em relação à distribuição dos nutrientes, os lipídeos atendem à recomendação.

Os carboidratos devem fornecer de 30 a 60% das calorias de uma preparação para lactentes (MAHAN e ESCOTT-STUMP 2002); assim, na figura 2, nota-se que a FIHF está de acordo com esta recomendação, pois contém 44% deste nutriente.

Pode-se concluir que em relação à distribuição de macronutrientes na FIHF, há um equilíbrio, atendendo à recomendação estabelecida neste sentido.

A figura 3 mostra a distribuição de macronutrientes da papa de legumes com hidrolisado de frango.

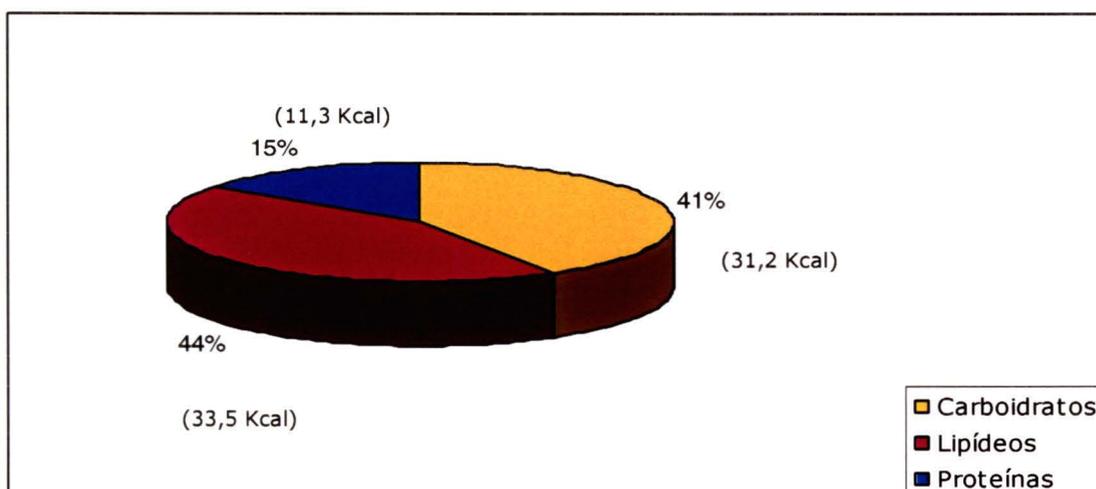


Figura 3: Distribuição de macronutrientes (%) na Papa de Legumes com Hidrolisado de Frango.

A PLHF fornece 76 Kcal em 100g de alimento, assim o consumo de 300g de PLHF atende 27% das indicações da DRI (2002) em relação às calorias, que é de 850Kcal/dia para crianças de 6 a 12 meses.

Uma papa de legumes com frango existente no mercado, tem 69,5 Kcal por 110g, e a PLHF, 76 Kcal, nota-se com isto que há uma similaridade entre ambas.

A distribuição de macronutrientes segue a mesma recomendação de MAHAN e ESCOTT-STUMP (2002), de 30 a 54% das calorias serem fornecidas pelos lipídeos e de 30 a 60% pelos carboidratos. A figura 3 mostra que 41% e 44% das calorias correspondem a lipídeos e carboidratos respectivamente, valores que atendem a esta distribuição recomendada.

Como já mencionado anteriormente a PLHF não seria o único alimento consumido no decorrer do dia pela criança, assim, não haveria prejuízo no seu estado nutricional.

Além da importância da quantidade e da distribuição dos lipídeos é necessário também conhecer a qualidade dos ácidos graxos presentes na fórmula infantil com hidrolisado de frango. Os resultados da tabela 5 mostram que a FIHF contém ácido palmítico e ácidos graxos essenciais, ou seja, uma gordura com perfil de ácidos graxos semelhante ao do leite materno, e que tem uma melhor digestão e absorção. (SILVA e GIOIELLI 2005).

Tabela 5: Média e Desvio Padrão da triplicata da composição de ácidos graxos da fórmula infantil com hidrolisado de frango

Ácido Graxo	Média %	Desvio Padrão
Mirístico 14:0	1,15	0,00
Palmítico 16:0	22,94	0,08
Palmitoléico 16:1	1,85	0,02
Esteárico 18:0	11,77	0,00
Oléico 18:1	36,04	0,18
Oléico trans 18:1 trans	2,29	0,21
Linoléico 18:2	22,32	0,08
Linolênico 18:3	1,61	0,00
Monoinsaturado	35,57	
Poliinsaturado	23,93	
Saturado	37,89	
Trans	2,29	
TOTAL	100	

(n=3)

O leite materno é considerado o padrão ouro para a alimentação de crianças. Por isso, encontrar uma gordura semelhante à do leite materno para compor uma fórmula infantil é essencial para assegurar a sua absorção no trato gastrointestinal imaturo do recém nascido (MOSLEY et al. 2005). Dos 4,5% de lipídeos contidos no leite humano um quarto constitui-se de ácido palmítico, ou seja, cerca de 23,9% (CARNIELLI et al. 1995). Na tabela 5, pode-se observar que a FIHF contém 22,94% de ácido palmítico, uma quantidade muito próxima à do leite materno, garantindo assim, o aporte deste importante ácido graxo à criança.

A banha de porco é rica em ácidos palmíticos (29,7%) e oléicos (38,17%), enquanto o óleo de soja é rico em ácidos graxos essenciais, que o organismo não é capaz de sintetizar, 54,21% de ácido linoléico e 6,53% de ácido linolênico. Assim, a mistura dos dois tipos de gordura é importante para suprir todas as necessidades da criança (SILVA e GIOIELLI 2005).

O ácido palmítico tem um importante papel em fornecer energia à criança (AGOSTINI 2003). Este ácido presente no leite humano encontra-se na posição *sn-2*

na cadeia do glicerol, nesta posição ele não sofre hidrólise pelas enzimas pancreáticas, e o remanescente 2-monoacilglicerol, que formam micelas com os ácidos biliares é bem absorvido. No leite de vaca e na maioria dos óleos vegetais e fórmulas infantis, este ácido graxo encontra-se na posição *sn-1* e *sn-3*, que é hidrolisado pela lipase pancreática resultando em ácido palmítico livre, que se liga ao cálcio formando complexos menos absorvíveis (KENNEDY 1999; CARNIELLI 1995).

Embora, neste estudo, a gordura não tenha sido esterificada de modo a mudar a posição do ácido palmítico, sabe-se que este ainda pode ser absorvido pela criança (KENNEDY 1999).

A quantidade média de ácido linoléico no leite materno é de 14,18% do total de ácidos graxos, enquanto na FIHF encontra-se uma quantidade superior a esta de 22,32% (Tabela 5). Em relação ao ácido linolênico o leite materno contém 1,08% (MOSLEY et al 2005) e a FIHF, 1,81%.

A presença de ácidos graxos essenciais na FIHF é importante porque eles são precursores dos Ácidos Graxos Poliinsaturados de Cadeia-Longa (LCPUFA), ácidos graxos que contém 20 ou mais átomos de carbono, com duas ou mais duplas ligações. O ácido linoléico é precursor do ácido araquidônico (AA) e o ácido linolênico do ácido docosahexanóico (DHA) (AGOSTINI 2003). Os LCPUFA estão presentes no leite materno, e desempenham a função de participar no desenvolvimento estrutural dos fotorreceptores da retina e na rede sináptica (DHA), já o AA parece ter a função de neurotransmissor, ou seja, ambos importantes para o desenvolvimento visual e neurológico da criança (AGOSTINI e RIVA 2000). O trabalho de REICHARDT et al. (2004) evidencia o consumo de LCPUFA pelos bebês amamentados com leite materno e a redução do aparecimento de atopia em crianças do grupo de risco.

Os ácidos graxos *trans* são formados no processo de hidrogenação parcial dos óleos vegetais, que em sua maioria possuem uma configuração *cis*. O aquecimento de óleos vegetais também induz à formação destes ácidos graxos (MOREIRA et al. 2002). Durante o seu preparo a FIHF sofre aquecimento, o que pode ser uma explicação para a sua ocorrência de *trans*, 2,29% (Tabela 5).

Ácidos graxos *trans* também foram encontrados no leite materno de americanas, a explicação provável é o alto consumo deste tipo de gordura por esta população, 5,1% (MOSLEY et al. 2005) e 7,1% (INNIS e KING 1999). As implicações da presença deste ácido graxo na saúde são negativas, por trazerem risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares em longo prazo.

No estudo de MOSLEY et al. (2005) encontrou-se que todos os ácidos graxos *trans* ocorreram no ácido oléico. Um paralelo com o resultado da cromatografia gasosa dos ácidos graxos da FIHF (Tabela 5), mostra que também foi este o ácido graxo que sofreu hidrogenização, transformando-o em *trans*, embora numa quantidade menor do que a presente no estudo de MOSLEY et al. (2005). Uma possível explicação é de que o ácido oléico é muito encontrado nas margarinas consumidas pelas americanas e também pode ser encontrado em gorduras de origem animal, como a de porco (MOSLEY et al. 2005).

Na tabela 6 nota-se que a proporção de tipos de ácidos graxos é de 35,57% de monoinsaturados, 23,93% de poliinsaturados e 37,89% de saturados. Segundo CUNHA (2000), o percentual médio de ácidos graxos no leite materno de mulheres residentes em Brasília, foi de 33,34% para os monoinsaturados, 25,05% para os poliinsaturados e 40,03% para os saturados, semelhante ao leite de outras populações, como as panamenhas, que têm padrão alimentar próximo às brasileiras. Assim, a distribuição dos ácidos graxos da FIHF se assemelha, em relação às três classes de ácidos graxos

do leite materno, isto indica uma melhor aceitabilidade e fornecimento das necessidades da criança.

Pode-se concluir que em relação à composição de ácidos graxos a FIHF se assemelha à gordura do leite materno por conter tipos e proporções similares de ácidos graxos, sendo assim, adequada ao consumo de crianças de 0 a 12 meses. Apesar de serem necessários mais estudos para o conhecimento da posição do ácido palmítico no glicerol e sua influencia na absorção da gordura.

5.4 Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi realizada, com duas amostras, em três tempos diferentes, 0 hora, 72 horas e 504 horas, e neste período foram conservadas na temperatura de 4°C. O objetivo deste teste foi verificar a presença de microorganismos patogênicos nas amostras e se se alterou a flora microbiana ao longo do tempo, o que impossibilitaria seu consumo.

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos com a análise microbiológica das amostras de hidrolisado de frango.

Tabela 6: Contagem de microorganismos patogênicos no hidrolisado de frango, nas amostras 1 e 2, ambas com três coletas: no dia do preparo (0 hora), em 72 horas e em 1 semana

TEMPO	Bolores e Leveduras UFC/g ^a	Mesófilos UFC/g ^a	Coliformes Termotolerantes NMP/g ^b	Salmonella spp.	Staphylococcus spp. UFC/g ^a	
A M O S T R A 1 (1 semana)	0 hora	-	$0,33 \times 10^{-2}$	<3	Ausente	-
	72 horas	$0,33 \times 10^{-1}$ 1	$0,33 \times 10^{-2}$	<3	Ausente	-
	504 horas	-	$0,33 \times 10^{-2}$	<3	Ausente	-
A M O S T R A 2 (1 semana)	0 hora	$0,33 \times 10^{-1}$ 2	$0,33 \times 10^{-1}$	11	Ausente	-
	72 horas	-	$6,33 \times 10^{-1}$	<3	Ausente	-
	504 horas	-	-	<3	Ausente	-

^a Contagem Padrão em Placas = contagem total de microorganismos

^b Número Mais Provável

A temperatura de cocção foi controlada e atingiu 93°C, durante 5 minutos, a fim de garantir, segundo a CVS 06/1999, pelo menos 75°C em toda sua superfície. O tratamento térmico é eficiente se for respeitado o binômio tempo X temperatura, para que sejam eliminados os microorganismos e preservadas as características sensoriais e o valor nutricional do produto (VIDAL-MARTINS et al. 2005). Porém, para assegurar a melhor qualidade não basta um bom controle de temperatura e tempo apenas durante o preparo, mas também no armazenamento. O resfriamento do alimento deve ser feito de forma rápida, para impedir crescimento de microorganismos, e ser armazenado em recipientes limpos a 4°C (BRASIL 1999). Portanto, estes são controles importantes a serem realizados para garantir a segurança microbiológica do alimento.

O pH do hidrolisado de frango foi ajustado para neutro, no momento do início da análise microbilogica com hidróxido de sódio autoclavado, para que não pudesse haver alteração dos resultados decorrentes do pH inferior a 7,0. Visto que a maioria das bactérias e demais microorganismos crescem melhor em pH neutro, em torno de 6,6 a 7,0, assim um valor abaixo deste, como o do hidrolisado de frango, 5,5, poderia reduzir o crescimento de microorganismos (ADAMS e MOSS 1997).

Na tabela 6 nota-se os resultados obtidos com as análises microbiológicas realizadas em três tempos diferentes. Na amostra 1, no tempo zero, só houve crescimento dos microorganismos mesófilos, em pequena quantidade. Porém, não houve mudança na flora microbiana no decorrer do tempo, o que não indica um risco de armazenamento.

A análise da amostra 2, os frascos para conservação das amostras, foram autoclavados, para evitar que estes contaminassem as preparações e alterassem os resultados. Estabeleceu-se assim, um ponto crítico de controle, ou seja, a higienização dos frascos de armazenamento.

Na tabela 6 nota-se que ocorreu a presença de bolores de leveduras ($0,33 \times 10^{-1}$) na 1ª amostra às 72h, indicando contaminação durante a análise, pois os resultados não apareceram na amostra no tempo 0 e nem em 504 horas. Já na amostra 2, houve presença de bolores e leveduras no tempo 0 ($0,33 \times 10^{-2}$ UFC/g). Não foram encontrados padrões de referência quanto à contagem segura destes microorganismos em produtos à base de frango, mas como este resultado não aumentou nas amostras de 72h e 504h, há uma indicação de que esta presença não traria riscos à saúde do consumidor.

A presença de bolores e leveduras em alimentos pode indicar contaminação advinda do meio ambiente ou resultado de manipulação e armazenamento em

condições higiênico-sanitárias insatisfatórias (SILVA JR. 2002; SIQUEIRA 1995). Segundo JAY (2000), a contaminação da carne de frango por bolores e leveduras não é considerada de grande importância, mas os bolores mais comumente encontrados seriam *Candida* e *Debaryomyces* na carne fresca.

A contagem padrão em placas e a pesquisa de coliformes termotolerantes refletem a condição geral de higiene durante o processo de produção dos alimentos, hidrolisado de frango, FIHF e PLHF. Tendo em vista os baixos valores obtidos pela contagem de microorganismos mesófilos no hidrolisado de frango (Tabela 6), nas duas amostras, há uma indicação de que não houve falhas no processamento, porém não se pode desconsiderar a possibilidade da presença de outros microorganismos patogênicos ou deteriorantes não pesquisados neste estudo (JAY 2000).

Neste trabalho considerou-se a tolerância de até 3×10^6 UFC/g para os microorganismos mesófilos, contida no Decreto Estadual nº 12486 de 20/01/1978 (SOARES 1999). O padrão estabelecido pelo Ministério da Saúde da Colômbia é mais restrito do que o brasileiro, considerando como limite máximo para mesófilos em produtos cárneos cozidos de 2×10^4 UFC/g a 3×10^4 UFC/g (SOLANO 1992, citado por HANASHIRO 2002). No Canadá e nos Estados Unidos da América (EUA) os limites aceitáveis também são inferiores aos praticados no Brasil 5×10^5 UFC/g (ICMSF 1980). Porém, mesmo considerando-se estes diversos parâmetros nota-se na tabela 6 que as UFC/g de microorganismos mesófilos no hidrolisado de frango encontram-se abaixo destes, evidenciando sua segurança de consumo neste sentido.

Na tabela 6 observa-se que houve diferenças em relação à amostra 1, o crescimento de 11NMP/g de coliformes termotolerantes na amostra do tempo 0 e um crescimento maior de microorganismos mesófilos na amostra de 72 horas. Estes resultados indicam que há risco de toxi-infecção alimentar se houver o consumo do

hidrolisado de frango devido à presença de coliformes termotolerantes. Porém, pode ter havido contaminação na análise, pois o resultado não se repetiu nas amostras de 72h e de 1 semana, nem nas amostras em que foi acrescentado o hidrolisado. Assim, este resultado, não necessariamente contra-indica o consumo de hidrolisado de frango, mesmo após 1 semana de seu preparo, desde que as regras de boas práticas no preparo em conservação sejam seguidas.

A presença de coliformes fecais em uma concentração acima de 3NMP/g de alimento já é considerada um indicador da qualidade higiênica insatisfatória do alimento segundo ALMEIDA et al. (1999). Seguindo esta indicação apenas a amostra 2, no tempo, estaria acima deste parâmetro, não contra-indicando seu consumo, pois este crescimento indica contaminação da amostra.

Nos EUA e Canadá o limite máximo de coliformes fecais é de 230NMP/g, em carne de frango. Dessa forma, considerou-se a tolerância de até 10^2 UFC/g de coliformes totais e *S. aureus* e ausência de *Salmonella* spp. (TORRES et al. 1998). Assim, o hidrolisado de frango estaria de acordo com todos estes parâmetros, não indicando que existem maiores riscos relativos ao seu consumo.

A tabela 7 apresenta os resultados obtidos com a análise microbiológica das amostras de fórmula infantil com hidrolisado de frango.

Tabela 7: Contagem de microorganismos patogênicos na fórmula infantil com hidrolisado de frango, nas amostras 1 e 2, ambas com três coletas: no dia do preparo (0 hora), em 72 horas e em 1 semana.

TEMPO	Bolores e Leveduras UFC/g ^a	Mesófilos UFC/g ^a	Coliformes Termotolerantes NMP/g ^b	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp. UFC/g ^a	
A M O S T R A 1	0 hora	$0,33 \times 10^{-1}$	$8,33 \times 10^{-2}$	< 3	Ausente	-
	72 horas	-	$0,66 \times 10^{-2}$	<3	Ausente	-
	504 horas (1 semana)	-	-	<3	Ausente	-
A M O S T R A 2	0 hora	-	-	<3	Ausente	-
	72 horas	-	-	<3	Ausente	-
	504 horas (1 semana)	-	-	<3	Ausente	-

^a Contagem Padrão em Placas = contagem total de microorganismos

^b Número Mais Provável

No preparo destas amostras também foram utilizadas as regras de boas práticas no preparo dos alimentos. O hidrolisado de frango foi preparado no mesmo dia de sua utilização. Todos os ingredientes estavam dentro do prazo de validade e armazenados em local seco, fresco e arejado, conforme indicação do fabricante. A temperatura de cocção atingiu 93°C durante cerca de 8 minutos, o que atende às recomendações da CVS 06/99 (BRASIL 1999).

A presença de bolores e leveduras foi considerada baixa e praticamente inexistente, parecendo em apenas na primeira amostra no tempo 0 ($0,33 \times 10^{-1}$ UFC/g). A contagem de bolores e leveduras é usada como parte do critério microbiológico de alimentos lácteos em todo o mundo (NOVAK et al. 2002), no Brasil a

legislação não estabelece parâmetros em relação a estes microorganismos. O controle de qualidade com o uso destes microorganismos pode ser um bom indicador de problemas de higiene no preparo, armazenamento ou transporte do leite.

Na tabela 7 nota-se que ocorreu o crescimento de microorganismos mesófilos na amostra 1, coletada no tempo 0, e que houve crescimento com o tempo, 72h. A presença de microorganismos mesófilos fornece informações sobre as características higiênico-sanitárias do processamento e do armazenamento do produto (VIDAL-MARTINS et al. 2005). Assim, a quantidade destes microorganismos presentes nesta amostra não contra-indica sua recomendação para o consumo.

A resolução da RDC nº 12 de 2001 (BRASIL 2001), utilizada como parâmetro microbiológico nesta pesquisa, não contempla a contagem de microorganismos aeróbios mesófilos para a categoria de fórmulas infantis. Dessa forma, considerou-se a tolerância proposta por "INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS" (1974 citado por SCHWAB et al. 1982) de 1×10^4 UFC/g. Nota-se na tabela 8 que na amostra 1 de FIHF foi encontrado um número abaixo deste, portanto assegurando a qualidade higiênica do preparo e a possibilidade do consumo.

Na amostra 2, os frascos utilizados para o seu armazenamento foram previamente autoclavados, e não se encontrou nenhum dos microorganismos. Isto indica que a higiene do frasco, no caso mamadeira, é importante para evitar a contaminação microbiológica.

Parâmetros internacionais de qualidade microbiológica de fórmulas infantis, como o do Departamento de Agricultura Americano (USDA 2006) determina que é tolerável até 500UFC/g de microorganismos mesófilos. Já o limite aceitável segundo a legislação Australiana (AUSTRALIAN NEW ZEALAND FOOD STANDARD CODE 2002) estabelece

um limite ainda mais baixo 1×10^3 até 1×10^4 UFC/g. Assim, nota-se que em relação aos microorganismos mesófilos e as determinações nacionais e internacionais de qualidade microbiológica, todas as amostras de FIHF foram consideradas adequadas ao consumo, por estar abaixo do limite tolerável.

Segundo a RDC nº 12 (BRASIL 2001), a preparação é aceitável para consumo se contiver um número inferior a 10NMP/g de coliformes totais a 35°C e for ausente de coliformes a 45°C. Os padrões internacionais de segurança alimentar para fórmulas infantis estabelecem limites iguais para coliformes totais até 10NMP/g e inferior a 3NMP/g de alimento (USDA 2006), o critério para alimentos infantis do "FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE WORLD HEALTH ORGANIZATION" (2001) considera aceitável ao consumo o alimento com uma quantidade de <3NMP/g de coliformes fecais. Também o "AUSTRALIAN NEW ZEALAND FOOD STANDARD CODE" (2002) estabelece um intervalo semelhante de <3 a 10NMP/g de coliformes fecais. Com isto pode-se observar na Tabela 7 que as amostras de fórmula infantil podem ser recomendadas para consumo, atendendo a todos os parâmetros microbiológicos nacionais e internacionais mesmo depois de permanecer 1 semana conservadas em geladeira a 4°C, visto que todas as amostras tinham uma contagem de coliformes termotolerantes inferior a 3 NMP/g.

Para os microorganismos *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp., a FIHF também atende aos padrões nacionais e internacionais de qualidade microbiológica. Segundo a RDC nº 12 (BRASIL 2001), a fórmula infantil deve ser ausente de *Staphylococcus* spp. e ausente de *Salmonella* spp.. O limite estabelecido pelo padrão australiano é o mesmo que o brasileiro para estes microorganismos (AUSTRALIAN NEW ZEALAND FOOD STANDARD CODE 2002), já o regimento do USDA (2006) para *Salmonella* spp., também é o mesmo, ou seja, que ela deve ser ausente nas amostras, mas para o *Staphylococcus* spp. há maior tolerância, ou seja <3 UFC/g.

A qualidade da FIHF foi considerada aceitável devido aos cuidados adotados durante seu preparo e à boa qualidade da matéria prima utilizada. Assim, deve-se tomar diversos cuidados no preparo de alimentos destinados ao consumo por crianças. Alguns cuidados básicos incluem utilizar água limpa e filtrada no preparo do alimento, lavar as mãos com água corrente e sabão, diversas vezes ao manipular alimentos, manter os mesmos sempre cobertos, não oferecer à criança sobras, higienizar bem a mamadeira (lavar bem com água e sabão e esterilizar submergindo em água fervente) e demais utensílios utilizados (MS/OPAS/OMS 2002).

No processo de esterilização de mamadeiras, bicos e utensílios, o tempo e a temperatura de fervura, que deve ser de 25 minutos após a ebulição da água bem como a higienização prévia destes, com água e sabão, são pontos críticos de controle a serem considerados para eliminação de contaminantes (SALLES e GOULART 1997).

Recomenda-se que após o preparo da fórmula infantil esta deve ser mantida refrigerada até o consumo, e que o resfriamento deve ocorrer de forma rápida, de modo a atingir uma temperatura de 3°C em até 4 horas (BAKER 2002). A temperatura ideal de armazenamento é de 4,4°C, após o resfriamento (SALLES e GOULART 1997).

A qualidade microbiológica da FIHF pode ser comparada com o encontrado em estudos que verificaram a qualidade microbiológica de fórmulas infantis. No estudo de SCHWAB et al. (1982) verificou-se a qualidade microbiológica de 1574 amostras de fórmulas infantis substitutas do leite e do leite em pó nos Estados Unidos da América, encontrando-se que todas as amostras continham um número de coliformes fecais <3NMP/g, e também eram aceitáveis em relação à contagem de bactérias mesófilas e *Staphylococcus* spp.. Os dados deste estudo levaram à conclusão de que os critérios estabelecidos de qualidade microbiológica eram razoáveis e adequados.

Num estudo de SALLES e GOULART (1997) investigou-se a contaminação de fórmulas infantis preparadas em lactários hospitalares, considerando diversas variáveis como higiene de equipamentos e utensílios, técnicas de preparo e a higiene dos manipuladores. Em relação à presença de bactérias mesófilas os resultados variaram dentro de $3,1 \times 10$ a $8,9 \times 10^3$ CPP/g, a maioria das amostras encontrava-se dentro dos limites estabelecidos neste estudo de 2×10^3 CPP/g, mas, 16,6% apresentavam-se fora dos padrões. Na contagem de coliformes fecais, 41,6% das amostras apresentaram contagem superior à 3NMP/mL. Já a contagem acima de 10 UFC/mL de *S. aureus* foi encontrada em apenas uma das amostras. Em nenhuma das amostras foi encontrada a presença de bolores e leveduras. Assim, ficou evidente que há risco de transmissão de doenças infecciosas em alimentos produzidos em lactário, principalmente devido à presença de coliformes fecais indicando falhas de higiene dos manipuladores.

Assim, nota-se que a FIHF, encontra-se com uma contagem de microorganismos adequada, mas esta qualidade depende muito das condições de preparo e da higiene dos manipuladores conforme evidenciado por SALLES e GOULART (1997).

No presente estudo, todos estes cuidados de higiene foram tomados no preparo dos alimentos, correlacionando-se isto ao fato de ter sido encontrado uma quantidade de microorganismos dentro dos parâmetros aceitáveis para a alimentação infantil. Assim, conforme foi discutido neste trabalho, de acordo com todos os padrões microbiológicos a FIHF pode ser considerada adequada ao consumo humano.

A tabela 8 apresenta os resultados da análise microbiológica da papa de legumes com hidrolisado de frango.

Tabela 8: Contagem de microorganismos patogênicos na papa de legumes com hidrolisado de frango, nas amostras 1 e 2, ambas com três coletas: no dia do preparo (0 hora), em 72 horas e em 1 semana.

TEMPO	Bolores e Leveduras UFC/g ^a	Mesófilos UFC/g ^a	Coliformes Termotolerantes NMP/g ^b	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp. UFC/g ^a	
A M O S T R A 1	0 hora	-	$8,33 \times 10^{-2}$	< 3	Ausente	-
	72 horas	-	$0,66 \times 10^{-2}$	<3	Ausente	-
	504 horas (1 semana)	$5,33 \times 10^{-1}$	$2,8 \times 10^{-2}$	<3	Ausente	-
A M O S T R A 2	0 hora	$5,33 \times 10^{-3}$	-	<3	Ausente	-
	72 horas	-	-	<3	Ausente	-
	504 horas (1 semana)	-	1×10^{-2}	<3	Ausente	-

^a Contagem Padrão em Placas = contagem total de microorganismos

^b Número Mais Provável

A contaminação de papas para crianças com microorganismos enteropatogênicos é freqüente, principalmente em países em desenvolvimento e depende da qualidade dos ingredientes, tempo e temperatura de armazenamento, o método de cocção utilizado e o uso de sobras na alimentação (LANATA 2003).

Durante a cocção a temperatura atingiu 94°C, durante mais de 15 minutos, assim atingiu-se a temperatura e o tempo indicados pela CVS 06 (BRASIL 1999). Depois de cozida a papa de legumes foi peneirada e armazenada na geladeira a 4°C.

Ao realizar-se a análise microbiológica o pH das amostras foi ajustado para 7,0, com solução de Hidróxido de Sódio, autoclavada, para não comprometer o resultado da análise, suprimindo o crescimento microbiano (SILVA Jr. 2002).

Na tabela 8 em relação às bactérias mesófilas, na primeira amostra houve contaminação nas três vezes em que ela foi analisada, sendo que esta microbiota foi reduzida com o tempo. Também, nota-se que depois de uma semana de conservação em geladeira, ocorreu o crescimento de bolores e leveduras. Segundo as recomendações da WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO (1979), para alimentos infantis a presença de bactérias mesófilas deve ser de até 1×10^5 UFC/g, sendo assim, a PLHF tem uma contagem abaixo deste limite, podendo, neste aspecto, ser indicada para o consumo.

Na amostra 2, mudou-se uma etapa de preparo, depois de peneirada, a PLHF foi novamente cozida, elevando-se sua temperatura para 93°C (BRASIL 1999), durante pelo menos 2 minutos e utilizaram-se frascos autoclavados para seu armazenamento. Os resultados apresentados na tabela 8 indicam que com este procedimento ocorreu redução na presença de microorganismos mesófilos.

Segundo a RDC nº 12 (BRASIL 2001), para produtos infantis industrializados que serão consumidos prontos, a preparação é considerada boa para consumo na ausência de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp.. Os resultados da análise microbiológica da PLHF (Tabela 8) mostram que a contagem de coliformes termotolerantes foi inferior a 3 NMP/g nas duas amostras, também que em ambas houve ausência de *Salmonella* e *Staphylococcus* spp.. Indicando adequação da PLHF em relação à legislação vigente de segurança microbiológica de alimentos, o que a torna segura para o consumo.

Parâmetros Internacionais de Segurança de alimentos destinados ao consumo por crianças menores de 12 meses também estabelecem critérios iguais aos brasileiros como a WHO (1979), que indica uma contagem de coliformes fecais <3 NMP/g e ausência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. e o do *Codex Alimentarius* (1989),

que estes alimentos devem ter ausência de microorganismos patogênicos. Deste modo, a PLHF também está dentro dos critérios internacionais de indicação de consumo para este alimento.

Os vegetais em geral, apresentam baixo risco de transmitir doenças, principalmente se submetidos à cocção (BRYAN 1988). Na PLHF, utilizam-se vegetais como ingredientes principais, mas como foi confirmado nesta pesquisa, estes não foram uma fonte de contaminação microbiológica.

No estudo de SHETH et al. (2000) observou-se que, a implantação da metodologia de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) em alimentos destinados ao consumo por crianças menores de 24 meses, é muito importante quando, se observa grande quantidade de microorganismos presentes nestes alimentos. Principalmente, nos que são preparados por pessoas com condições pessoais e ambientes não adequados de higiene. Os principais pontos críticos observados nesta pesquisa foram: ingredientes crus inicialmente contaminados, péssima sanitização ambiental e higiene pessoal, consumo de sobras deixadas por longos períodos em temperatura ambiente; e tempo e temperatura insuficientes de cocção destes alimentos.

Em outro estudo, também conduzido com famílias de baixa renda, de MONTE et al. (1997), implantou-se um programa de educação em higiene para os manipuladores de alimentos e cuidadores. O programa de educação incluía princípios de lavagem das mãos antes e depois do preparo do alimento e de oferecê-lo à criança, utilizar água fervida no preparo e não utilizar sobras de alimentos. O programa trouxe bons resultados de redução da contaminação dos alimentos infantis preparados.

Assim, os cuidados com a seleção dos ingredientes, utilizando alimentos frescos ou congelados, boa higiene dos manipuladores e ambiente, cocção e armazenamento

adequados são essenciais para assegurar que o alimento não se torne um veículo de transmissão de infecções (POHLMAN e HENNEMAN 2003).

O *Staphylococcus* spp. não foi encontrado em nenhuma das amostras pesquisadas (TABELA 7,8 e 9), revelando principalmente boa higiene no preparo e manipulação dos alimentos e a temperatura de cocção suficiente para inativar a bactéria e não haver recontaminação após a cocção (CLIVER e RIEMAN 2002). Porém, é digno de nota que as toxinas produzidas por esta bactéria são resistentes ao tratamento térmico, portanto, a ausência de *S. aureus* não garante que o alimento esteja totalmente seguro (ICMSF 1980).

Apesar de no presente trabalho terem sido encontrados muitos resultados que indicam baixo risco de consumo destas preparações, deve-se levar em conta diversas variáveis como a tenra idade do consumidor, quantidade de alimento a ser consumida, interações com outros microorganismos que não foram pesquisados, para se confirmar a segurança de consumo destes alimentos (FDA 2001).

Neste estudo, todos os cuidados no preparo dos alimentos desenvolvidos foram tomados para evitar-se sua contaminação, o que é essencial conforme os resultados dos trabalhos mencionados anteriormente indicam, para garantir a qualidade do produto final e a segurança do consumidor. De modo que, só se garante a qualidade do produto se as regras boas práticas de higiene, mencionadas no decorrer deste trabalho, forem respeitadas.

CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que os objetivos propostos neste trabalho foram atingidos, visto que, foi possível desenvolver preparações caseiras, com hidrolisado de frango que podem ser indicadas na alimentação de crianças de 0 a 12 meses.

- *Fórmula Infantil com Hidrolisado de Frango:*

Conclui-se que esta possui uma composição de ingredientes adequada, dentro do preconizado para a composição de fórmulas infantis. Com a substituição do caldo de frango, pelo hidrolisado de frango, e o acréscimo dos demais ingredientes, como o creme de arroz, a gordura de banha de porco combinada com óleo de soja, a sacarose, a glicose de milho e o carbonato de cálcio, foi possível obter uma fórmula com características organolépticas adequadas.

O pH e a A_w da FIHF tem valores que propiciam o desenvolvimento de microorganismos patogênicos, assim é importante seguir as boas práticas de preparo para garantir sua segurança microbiológica. O pH é semelhante ao do leite de vaca o que indica uma segurança no seu consumo, pois possivelmente, este não traria riscos ao trato gastrointestinal.

Conclui-se que com relação à viscosidade, a FIHF é um alimento pseudo-plástico, de comportamento não newtoniano, assim, teoricamente estimula a sucção do bebê. A fim de manter esta característica, recomenda-se o consumo em temperatura em torno de 35 a 40°C. Para determinar-se a força de sucção do lactente, seria preciso considerar futuramente o tamanho do orifício do bico da mamadeira e a quantidade de líquido dentro do frasco; assim, seriam necessárias mais pesquisas que considerassem todas estas variáveis.

Quanto à quantidade e qualidade de proteínas, considera-se que a FIHF é adequada em relação ao seu conteúdo de proteínas, atendendo ao estabelecido pelo *Codex Alimentarius*, sendo segura para o consumo de crianças de 0 a 5 meses. O hidrolisado de frango é fonte de proteína de alto valor biológico, portanto, uma proteína de boa qualidade para compor uma fórmula infantil.

Com relação à gordura, a FIHF fornece uma quantidade que atende ao estabelecido pelo *Codex Alimentarius*. E esta gordura possui boa qualidade, fornecendo uma quantidade adequada de ácido palmítico e dos ácidos graxos essenciais ao desenvolvimento da criança.

Em relação aos carboidratos, na FIHF há uma quantidade próxima à do leite materno. A quantidade de fibras totais encontra-se dentro do preconizado pelas entidades internacionais. Quanto às calorias, a FIHF pode ser considerada hipocalórica, assim pode ser necessário o acréscimo de gordura para aumentar sua densidade energética, ou a indicação do aumento do volume a ser consumido. A distribuição dos macronutrientes encontra-se adequada.

A FIHF contém o mineral Cálcio em quantidade suficiente para atender as necessidades da criança, devido ao carbonato de cálcio adicionado na formulação.

Considera-se importante a individualização da dieta e a possível recomendação de suplementação de micronutrientes, a ser indicada pela equipe que acompanha o lactente.

Com relação à segurança microbiológica, pode-se concluir que o consumo da FIHF não traz risco de transmissão de infecção ao lactente. Observou-se que é possível consumir estes alimentos quando armazenados na geladeira por até uma semana depois de seu preparo, embora isto não seja o ideal. Porém, esta qualidade só pode

ser assegurada se foram seguidas as boas práticas de aquisição, preparo e conservação deste alimento.

Assim, pode-se concluir que a FIHF é um alimento indicado ao consumo de lactente por conter uma composição de ingredientes e nutrientes e ter propriedades químicas e físicas adequadas, e ser segura do ponto de vista microbiológico.

- *Papa de Legumes com Hidrolisado de Frango:*

Pode-se concluir que possui uma combinação adequada de ingredientes, dentro do preconizado para alimentos infantis salgados. O hidrolisado de frango mostrou-se um ingrediente apropriado, como fonte de proteínas, sem comprometer muito o sabor. É importante recomendar que a PLHF não seja liquidificada, mas sim peneirada, ou amassada com garfo, para estimular a mastigação.

Em relação ao pH e A_w da PLHF ambos tem valores que permitem o crescimento de microorganismos, assim recomenda-se atenção com relação à higiene no seu preparo.

Quanto à composição de nutrientes, a PLHF atende a recomendação da DRI (2002) para crianças de 6 a 12 meses em 60,8% para proteínas, 31,7% para gorduras e 25% para os carboidratos. Quanto à quantidade de fibras, ela fornece 4,77g. A PLHF fornece 27% das necessidades calóricas de crianças nesta faixa etária. Assim, em relação aos nutrientes, conclui-se que a PLHF contém quantidade suficiente para satisfazer as necessidades da criança, visto que, este não será o único alimento que os contém a ser consumido durante o dia. A distribuição de macronutrientes encontra-se dentro do preconizado.

Em relação à segurança microbiológica, observa-se que a PLHF não traz riscos de toxi-infecção ao consumidor, desde que respeitadas as boas práticas de higiene na aquisição, manipulação, preparo e armazenamento.

Conclui-se que a PLHF pode ser indicada como alimento complementar para lactentes por ter uma quantidade e qualidade adequada de nutrientes, e ser segura microbiologicamente.

Assim, o hidrolisado de frango mostrou-se uma boa alternativa alimentar, sendo um alimento nutritivo e com segurança alimentar, quando usado em preparações para crianças de 0 a 12 meses com reações adversas aos leites.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams MR, Moss MO. Food microbiology. Cambridge. The Royal Society of chemistry; 1997.

Agostini C. Compliance of present recommendations of fatty acids in formulas for term infants with the actual human milk fatty acid composition in different populations. *Acta Paediatr.* 2003; 92: 785-9.

Agostini C, Riva E. Papel/Função dos LC-PUFAs na nutrição infantil. In: Riihã NCR; Rubaltelli FF; editors. *Infant Formula: Closer to the Reference*. Nestlé Nutrition workshop series. *Pediatric Program.* 2002; 47:111-119.

Alexy U, Kersting M, Sichert-Hellert W. Evaluation of dietary fibre intake from infancy to adolescent against various references – results of the DONALD Study. *Eur J Clin Nutr.* 2006; 15.

Almeida RCC, Matos CO, Almeida PF. Implementation of a HACCP system for on-site hospital preparation of infant formula. *Food control.* 1999;10: 181-187.

Alvarez-Astorga M, Capita R, Alonso-Calleja C, Moreno B, García-Fernández MDC. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Meat Science,* 2002; 62: 45-50.

Angellis RC. *Alergias Alimentares*. São Paulo: Atheneu; 2005.

Ahan KM, Han YS, Nam SY, Park HY, Shin MY, Lee SI. Prevalence of soy hypersensitive in cow's milk protein-sensitive children in Korea. *J Korean Med Sci* 2003; 18:473-477.

American Academy of Pediatrics. Hypoallergenic Infant Formulas. *Pediatrics* 2000; 106 (6): 346-349.

Atzingen MCV. Desenvolvimento de dieta enteral artesanal com hidrolisado protéico de carne e determinação de parâmetros químicos e nutricionais. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2005.

Australian New Zealand Food Standard Code [homepage na internet]. *Food Standards Gazette*. c2002 [acesso em 22 de abril de 2006]. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/fsc_1_6_1_Micro_v78.doc>.

Baker RD. Infant Formula Safety. *Pediatrics*. 2002; 110: 833-835

Bernardes, SM. Redescobrimos os Alimentos. São Paulo: Loyola; Faculdades Integradas São Camilo, 1997.

Bessa M. Cada alimento no seu tempo. *Revista Saúde é Vital – Edição especial Nutrição Infantil*. 2003, 6-11.

Beumer RR, Kusumaningrum H. Kitchen hygiene in daily life. *Int Biodeterioration & Biodegradation*. 2003; 51:299-302.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02,01,01: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União, Brasília*, 10 jan. 2001 [on line]. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12-01rdc.htm>> Acesso em 20 março de 2000.

Brasil - Centro de Vigilância Sanitária. Portaria CVS 06, de 10 de março de 1999. Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos. Diário Oficial da União. 12 março de 1999. Seção 1.

Bresolin AMB, Issler H, Bricks LF, de Lima IN. Alimentação da criança normal. In: Sucupira ACSL, Bresolin AMB, Marcondes E, Saito MI, Dias MHP, Zuccolotto SMC, coordenadores. *Pediatria em consultório*. 4ª ed. São Paulo: Sarvier; 2000. p.67-85.

Brookfield Engineering Laboratories. More solutions to sticky problems: a guide to getting more from your Brookfield viscometer. Massachusetts. 1992.

Bryan FL. Risks associated with vehicles of foodborn pathogens and toxins. *J Food Prot*. 1988; 51: 498-508.

Cacavallo RC. Alimentação no primeiro semestre de vida de crianças com risco de desenvolvimento para o desenvolvimento de asma e/ou atopia. Projeto Chiado. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2005.

Carazza FR, Marcondes E. *Nutrição Clínica em Pediatria*. São Paulo: Sarvier; 1991.

Carnielli VP, Luidjendijk IHT, Van Goudoever JB, Sulkers EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ, Sauer PJJ. Feeding premature newborn infants palmitic acid in amounts and stereoisometric position similar to that of human milk: effects on fat and mineral balance. *Am J Clin Nutr*. 1995; 61: 1037-1042.

Chandra RK. Breast feeding, hydrolysate formulas and delayed introduction of selected foods in the prevention of food hypersensitivity and allergic disease. *Nutrition Research*. 2002; 22: 125-35.

Christie L, Hine RJ, Parker JG, Burks W. Food allergies in children affect nutrient intake and growth. *J. Am. Diet. Assoc.* 2002; 102: 1648-1651.

Cliver DO, Rieman HP. *Foodborne diseases*. 2.ed. Academic Press: Londres, 2002.

Codex Alimentarius [homepage na internet]. Infant Formula. c1997 [acesso em 15 de agosto de 2004]. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/download/standards/288/CXS_072e.pdf>

Codex Alimentarius [homepage na internet]. Canned baby foods. c1989. [acesso em 15 de agosto de 2004]. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang-en>.

Collins RN, Treger MD, Goldsby RB, Boring III JR, Coohon DB, Barr RN. Interstate outbreak of *Salmonella* newbrunswick infection traced to powdered milk. *JAMA*. 1968; (203): 234.

Cordle CT. Soy protein Allergy: Incidence and Relative Severity. *J. Nutr.* 2004; 134: 1213-1219.

Costa EO, Coutinho SD, Castilho W, Teixeira CM, Gambale W, Gandra CRP, et al. Bacterial etiology of bovine mastitis in the State of São Paulo. *Rev. Microbiol.* 1986; 17: 107-112.

Ctenas MLB, Vitolo MR. *Crescendo com Saúde: o guia de crescimento da criança*. 3 ed. São Paulo: C2 Editora e Consultoria em Nutrição. 1999.

Cunha J. Composição de ácidos graxos no leite de mulheres do Distrito Federal e entorno. [Dissertação de Mestrado]. Brasília: Ciências da Saúde Universidade de Brasília; 2000.

Deng Y, Ryu JH, Beauchat LR. Influence of temperature and pH on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry foods and growth in reconstituted infant rice cereal. *Int J of Food Microbiology*. 1998; 45:173-184.

Degenhart HJ, Sauer PJJ. Structural position and amount of palmitic acid in infant formulas: Effects on fat, Fatty acid, and mineral balance. *J Ped Gastroenterol Nut*, 1996; 23: 553-560.

Docena G, Rozenfeld P, Fernández R, Fossati CA. Evaluation of the residual antigenicity of cow's milk substitutes by *in vitro* tests. *Allergy*. 2002; 57: 83-91.

[DRI] Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. [homepage na internet]. Dietary References Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. c2002 [acesso em 15 de outubro de 2004]. Disponível em: <<http://www.nap.edu/books/0309085373/html>>.

Dwyer JT. Dietary fiber for children, how much? *Pediatrics*. 1995. 96, 1019-1022. In: Edwards CA, Parrett AM. Dietary fibre in infancy and childhood. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2003; 62: 17-23.

Edwards CA, Parrett AM. Dietary fiber in infancy and childhood. *Proceedings of the Nutrition Society* 2003; 62: 17-23.

Eigenmann PA. Breast-feeding and atopic eczema dermatitis syndrome: protective or harmful? *Allergy*. 2004; 59: 42-44.

[FAO/WHO] Food and Agriculture Organization, World Health Organization. Microbiological specifications for foods. Rome: Geneva. Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1977.

Fein SB, Falci CD. Infant formula preparation, handling, and related practices in the United States. J. of the American Dietetic Association. 1999; 99: 1234-1240.

Fiocchi A, Bouygue GR, Martelli A, Terraciano L, Sarratud T. Dietary treatment of childhood atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS). Allergy. 2004; 59: 78-85

Fiocchi A, Travaini M, D'Auria E, Banderali G, Bernardo L, Riva E. Tolerance to a rice hydrolyzate formula in children allergic to cow's milk and soy. Clin. Exp Allergy. 2003; 33: 1576-1580.

Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957; 226: 497.

Fomon SJ, Ziegler EE, Nelson SE, Rogers RR, Frantz JA. Infant formula with protein-energy ratio of 1,7g/100Kcal is adequate but may not be safe. J. of Pediatric Gastroenterology & Nutrition. 1999; 28: 499-501.

[FDA] Food and Drug Administration. [homepage na internet]. Center for Food Safety Applied Nutrition. Bacteriological analytical manual online. 8th ed. c2001 [acesso em 02 de março de 2006]. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/intro.html>>.

Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo; Atheneu. 1996

Garbelotti ML, Marsiglia DAP, Torres EAFS. Determination and validation of dietary fiber in food by the enzymatic gravimetric method. *Food Chemistry*. 2003; 83: 469-73.

Gartner LM, Greer FR, Section on Breastfeeding and Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency: new guidelines for vitamin D intake. *Pediatrics*, 2003; 111. 908-910.

Grimble GK, Keohane PP, Higgins, Kaminski MV, Silk DBA. Effect of peptide chain length on amino acid and nitrogen absorption from two lactoalbumin hydrolysates in the normal human jejunum. *Clin Sci*. 1986; 71: 65-69.

Guthrie CA, Rapoport L, Wardle J. Young children's food preferences: a comparison of three modalities of food stimuli. *Appetite* 2000; 35: 73-77.

Halken S. Prevention of allergic disease in childhood: clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention. *Pediatr. Allergy Immunol* 2004. 15: 9-32.

Halken S, Hansen KS, Jacobsen HP, Estmann A, Christensen AEF, Hansen LG, Kier SR, Lassen K, Lintrup M, Mortensen S, Ibsen KK, Osterballe O, Host A. Comparison of a partially hydrolyzed infant formula with two extensively hydrolyzed formulas for allergy prevention: A prospective, randomized study. *Pediatr Allergy Immunol*. 2000; 11: 149-61.

Host A, Halken S. Hypoallergenic formulas – when, to whom and how long: after more than 15 years we know the right indication. *Allergy*. 2004; 59: 45-52.

Han YS, Park HY, Ahn KM, Less JS, Chol HM, Lee SI. Short-term effect of partially hydrolyzed formula on the prevention of development of atopic dermatitis in infants at high risk. *J. Korean Med. Sci* 2003; 18: 547-551.

Haztman L, Lago RCA. Rapid preparation of fatty acids methyl ester. *Labor Pract*, 1973; 22: 475-6

Hirschbruch MD, Torres EAFS. Reações adversas em alimentos: alergia e intolerância alimentar. *Higiene Alimentar*. 1997; 50: 8-10.

[IAMFES] International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Inc. Procedures to implement the hazard analysis critical point system. USA. 1991.

[IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [homepage na internet]. Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF, 2002-2003. [acesso em 05 de abril de 2006]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>.

[ICMSF] International Commission for the Microbiological Specifications of Foods. *Ecologia Microbiana de los alimentos*. Zaragoza: Acribia; 1980.

Inns SM, King DJ. *trans* Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential *all-cis* *n*-6 and *n*-3 fatty acids and determine *trans*, but not *n*-6 and *n*-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr*. 1999. 70: 383-90.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms in foods*. University of Toronto Press: Toronto, 1974. In: Schwab AH; Swartzentruber A; Wentz BA; Read RB. Microbiological quality of dry-milk mixes and milk substitute infant formulas. *Applied and Environmental Microbiology*. 1982. 43: 389-391.

Jacob CMA, Pastorino AC, Castro APBM, Corradi GA. Alergia alimentar. Sociedade Brasileira de Pediatria. São Paulo: Mead Johnson, 2006.

Jay JM. Modern Food Microbiology. 6.ed. Aspen Publication: USA, 2000.

Kennedy K, Fewtrell MS, Morley R, Abott R, Quilan PT, Wells JCK, Bindels JG. Double-blind, randomized trial of a synthetic triacilglycerol in formula-fed term infants: effects on stool biochemistry, stool characteristics, and bone mineralization. *Am J Clin Nutr.* 1999. 70: 920-927.

Kramer MS, Kakuma R. Maternal dietary antigen avoidance during pregnancy and/or lactation for preventing or treating atopic disease in the child (Cochrane Review). The Cochrane Library. 2004; Issue 2. Oxford: Update software.

Koda YKL, Barbieri D, Sototuka CMK, Pinto e Silva MEMP. Intolerância aos Dissacarídeos. In: MARCONDES, E., LIMA, I. N. Dietas em Pediatria Clínica. 3a ed. São Paulo: Sarvier. 1987. p. 96-99.

Lahl WJ, Braun SD. Enzymatic production of protein hydrolyses for food use. *Food Technology.* 1994; 48: 68-71.

Lanata CE. Studies of food hygiene and diarrhoeal disease. *Int J Environ Health Res.* 2003; Suppl 1: 175-83.

Lanou AJ, Berkow SE, Barnard ND. Calcium, Dairy products, and bone health in children and young adults: a reevaluation of the evidence. *Pediatrics.* 2005; 115: 736-43.

Lessof MH. Alergia e intolerância a los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1996. p. 86-95.

Lonnerdal B, Forsum E. Casein content on human milk. *Am J Clin Nutr.* 1985. 41: 113-120.

Lopes DCF, Silva VDM, Morais HA, Santoro MM, Figueiredo AFS, Silvestre MPC. Hidrolisados enzimáticos de leite em pó desnatado como fonte de oligopeptídeos para formulações dietéticas. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* 2002; 24: 51-70.

Mahan LK, Escott-Stump S. *Alimentos, nutrição e dietoterapia.* ed. 10, São Paulo: Rocca, 2002.

Maldonado J, Gil A, Narbona E, Molina JA. Special formulas in infant nutrition: a review. *Early Human Development.* 1998; 53: S23-32.

Marshall RT. *Standard methods for the examination of dairy products.* 16 ed. Washington; APHA. 1992.

Marmer WN, Maxwell RJ. Dry column method for the quantitative extraction and simultaneous class separation of lipids from muscle tissue. *Lipids.* 1981; 16: 365-371.

Martinelli MA, Gelli DS. O Codex Alimentarius. *ILSI Brasil notícias.* 2005; outubro:4.

McNeill L, Butterwick R, Rolfe V, Batt R. Proteínas hidrolizadas: ¿hipoalergénicas o despliegue publicitario? *WALTHAM Focus:* 2001:1; 10-12.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, MacCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et. al. Food-related illness and death in the United States, *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5:607-625.

Menella JA, Beauchamp GK. Flavor experiences during formula feeding are related to preferences during childhood. *Early Human Development*. 2002; 68; 71-82.

Menella JA, Griffin CE, Beauchamp GK. Flavor programming during infancy. *Pediatrics*. 2004; 113 (4): 840-845.

(a) Menella JA, Kennedy, JM, Beauchamp, GK. Vegetable acceptance by infants: Effects of formula flavor. *Early Human Development*. 2006.

(b) Menella JA, Ziegler, P, Briefel, R, Novak, T. Feeding Infants and Toddlers Study: The Types of Foods Fed to Hispanic Infants and Toddlers. *Supl. Am. Dietetic Association*. 2006: 96-106.

Meng J, Doyle MP. Introduction. *Microbiological Food Safety*. *Microbes and Infection*. 2002; 4:395-397.

[MS/OPAS/OMS] Ministério da Saúde – Secretaria de Políticas de Saúde – Coordenação Geral de Políticas de Alimentação e Nutrição, Organização Pan-americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde. Dez passos para uma alimentação saudável: guia alimentar para crianças menores de 2 anos. Brasília – DF; 2002.

Ministério da Saúde/SVS/DASIS. [homepage na internet]. Óbitos por ocorrência por capítulo CID – 10 segundo região Sudeste, cidade de São Paulo. c2003 [acesso em 15 de agosto de 2004]. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obtuf.def>>.

Mitne C. Preparações não-industrializadas para nutrição enteral. In: Waitzberg DL. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. v. 1. 3ªed. São Paulo: Atheneu. 2001. p. 629-40.

Mofidi S. Nutrition Management of Pediatric Food Hipersensitivity. Pediatrics. 2003; 11: 1645-1653.

Monte CMG, Ashworth A, Nations MK, Lima AA, Barreto A, Huttly SRA. Designing educational messages to improve weaning food hygiene practices of families living in proverty. Social Science & Medicine. 1997; 44: 1453-64.

Moreno-Ancillo A, Domínguez-Noche C, Gil-Adrados AC, Cosmes PM. Allergy to banana in 5-month-old infant. Ped. Allergy Imunollogy. 2004; 15: 284

Moreira NX, Curi R, Mancini Filho J. Acidos graxos: uma revisão. Nutrire. 2002; 24: 105-124.

Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acids methyl esters and dimethyacetals from lipids with boron fluoride-methanol. J. Lip Res. 1964; 5:600-8

Mosley EE, Wright AL, McGuire MK, McGuire MA. *trans* Fatty acids in milk produced by women in the Unites States. Am J Clin Nutr. 2005; 82: 1292-7.

Murahovschi J, Miranda AC. Alimentação na infância. Pediatria Moderna 2003; 39 (6) 169-80.

NATIONAL CENTER OF HEALTH STATISTICS. [homepage da internet] Growth charts. c2000. [Acesso em 22 de março de 2005]. Disponível em <www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/growthcharts/charts.htm>

Nelson BK, Lynch JM, Barbano DM. Impact of Milk Preacidification with CO₂ on Cheddar Cheese Composition and Yield. *J Dairy Sci.* 2004; 87:3581-3589.

Novak FR, Almeida JAG, Santos MJS, Wanke B. Contaminação do leite humano ordenhado por fungos micelais. *J. Pediatría.* 2002; 78: 197-201.

[NRC] National Research Council. Dietary Reference Intake: applications in dietary assessment. Washington: National Academic Press. 2000.

Oliveira MAA, OSORIO MM. Consumo de leite de vaca e anemia ferropriva na infância. *Jornal de Pediatría.* 2005; 81: 361-7.

Ornellas A, Ornellas LH. Alimentação da Criança - Nutrição Aplicada. São Paulo; Atheneu. 2001.

Osborn DA, Sinn J. Formulas containing hydrolysed protein for prevention of allergy and food intolerance in infantis (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue2. Oxford: Update software. 2004

Oscar TP. A quantitative risk assessment model for *Salmonella* and whole chickens. *Int J of Food Microbiology.* 2004; 93: 231-247.

Pedersen B. Removing bitterness from protein hydrolysates. *Food Technol.* 1994; 48:96-98.

Penterich VRA, Castro FM, Yang AC. Relato de Caso de Reintrodução de Alimentos para criança com suspeita de alergia alimentar. [abstract]. *Rev. Bras. Alergia e Imunopatologia.* 2005; 28: S44. [Presented at XXXII Congresso Brasileiro de Alergia e Imunopatologia; 2005 29 out a 2 nov; Curitiba, Pr].

Pessoa GVA. Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no Septênio 1970-76. III Sorotipos de *Shigella* e de *Escherichia coli* da Gastreenterite Infantil. Revista Instituto Adolfo Lutz. 1978; 38:129-139.

Phillips LG, McGiff ML, Barbano DM, Lawless HT. The influence of fat on the sensory properties, viscosity and color of lowfat milk. J Dairy Sci. 1995; 78: 1258-66.

Pinto e Silva MEM, Coelho HDS, Veiga A. Alternativas alimentares na alergia e/ou intolerância ao leite de vaca. In: Anais da I Semana Acadêmica de Ciência e Cultura da Faculdade de Saúde Pública da USP. São Paulo, Universidade de São Paulo. 1999. p.24.

Pinto e Silva MEM, Mazzilli RN, Cusin F. Composition of hydrolysates from meat. J Food Comp Anal. 1999; 12: 219-25.

Pinto e Silva MEM, Mazzilli RN, Barbieri D. Hidrolisado protéico como recurso dietético. J Pediatr. 1998; 74 (3): 217-21.

Pinto e Silva MEM. Hidrolisado protéico como recurso dietético. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 1995.

Pires EF, Shinohara NKS, Rêgo JC, Stamford TLM. Surto de toxinfecções alimentares em unidades de alimentação e nutrição. Higiene Alimentar. 2002; 16: 20-24.

Pohlman D, Henneman A. Food for babies. USA: Nebraska Unniveristy. Neb Guide. 2003. C-1K.

Pontes NS. A informação de consumo alimentar os dados da POF 1995-1996. In: Simpósio de Consumo Alimentar: as grandes bases de informação; 2000, São Paulo (BR). São Paulo: Instituto Danone. p. 47-51.

Räihä NCR, Nesci AF, Cajozzo C, Puccio G, Minoli I, Moro GE, Monestier A, Haschke-Becher E, Carrié AL, Haschke F. Protein Quantity and Quality in Infant Formula: Closer to the Reference. In: Räihä NCR, Rubaltelli FF, editors. Infant Formula: Closer to the Reference. Nestlé Nutrition workshop series. Pediatric Program. 2002; 47:111-119.

Reichardt P, Müller D, Posselt U, Vorberg B, Diez U, Schlink U, Reuter W, Borte M. Fatty acids in colostrum from mothers of children at high risk of atopy in relation to clinical and laboratory signs of allergy in the first year of life. *Allergy*. 2004; 59: 394-400.

Roig MJ, Alegria A, Barberá R, Farré R, Lagarda MJ. Calcium dialysability as an estimation of bioavailability in human milk, cow milk and infant formulas. *Food Chemistry*. 1999; 64. 403-409.

Sabra A, Wills A, Sabra S, Almeida E, Lopes C, Correa MC, Taulois M. Intolerância a Lactose. São Paulo: Nestlé. 1994.

Sampson HA. Update on food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; 113 (5): 805-819.

Salles RK, Goulart R. Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias e microbiológicas de lactários hospitalares. *Rev. Saúde Pública*. 1997; 31:131-9.

Schrank W, Al-Sayed LE, Beahm PH, Thach BT. Feeding responses to free-flow formula in term and preterm infants. *J Pediatr.* 1998; 132(3): 426-30.

Schwab AH, Swartzentruber A, Wentz BA, Read RB. Microbiological quality of dry-milk mixes and milk substitute infant formulas. *Applied and Environmental Microbiology.* 1982; 43: 389-391.

Serafini AB, André MCDB, Rodrigues MAV. Microbiological quality of human milk from a Brazilian milk bank. *Rev. Saúde Pública.* 2003; 37: 775-779.

Shaw DJ. *Introdução à química dos colóides e de superfícies.* São Paulo: Edgard Blücher, 1975.

Sheth M, Patel J, Sharma S, Seshardi S. Hazard analysis and critical control points of weaning foods. *Indian J Pediatr.* 2000; 67: 405-410.

Sicherer SH, Teuber S. Current approach to the diagnosis and management of adverse reactions to foods. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; 114: 1146-50.

Silk DBA, Grimble GK, Rees RG. Protein digestion and amino acid peptide absorption. *Proc. Nutr. Soc.* 1985; 44:63-72.

Silva RC, Gioielli LA. Physical properties of structured lipids from lard and soybean oil. 5th Congress of Pharmaceutical Sciences. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* 2005; 41,supl1: 155.

Silva Junior EA. *Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos.* 5a ed. São Paulo; Varela. 2002.

Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela. 1997.

Silvestre MPC. Review of methods for the analysis of protein hydrolysates. Food Chem, 1997; 60: 263-271.

Siqueira RS. Manual de microbiologia de Alimentos. EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. Brasília: EMBRAPA, SPI. 1995.

Sneath PH. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins. 1986.

Soares CM. Análise da qualidade higiênico-sanitária de pescado servido cru em restaurantes tipo fast food do município de São Paulo. [Dissertação de Mestrado] São Paulo; Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 1999.

Solano JC. Calidad microbiológica de alimentos expendidos em via publica em Santafé Bogotá. Santafé de Bogotá: OPAS/OMS; 1992. In: Hanashiro, A. Avaliação da Qualidade Higiênico-Sanitária e Nutritiva de Bentos comercializados no bairro da Liberdade, São Paulo. [Dissertação de Mestrado] São Paulo; Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2002.

Souza SB. Tipo de Aleitamento e Morbidade. [Dissertação de Mestrado] São Paulo; Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 1987.

Spolidoro JVN, Müller DP. Alimentação no primeiro ano de vida. Rev Bras Nutr Clin 2001; 16:175-179.

Stabile MNO. Hidrolisados de carne bovina: biotecnologia de obtenção. [Dissertação de Mestrado] São Paulo; Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 1989.

Stabile MNO. Otimização do processo biotecnológico de hidrólise de carne bovina. [Tese de Doutorado] São Paulo; Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 1991.

Takeda M, Okeda T. Utilização de carne liofilizada em dietoterapia. Rev Med IAMSPE. 1970. 1: 23-4.

Tatzer E, Schubert MT, Timishl W, Simbrumer,G. Discrimination of taste and preference for sweet in prematures. Early Hum Dev. 1985; 12 (1): 23-30.

Tiainen JM, Nuutinem OM, Kalavainen MP. Diet and nutritional status in children with cow 's milk allergy. European J of Clinical Nutrition. 1995; 49: 605-612.

Torres AC, Vara JAC, Fernández MEL. Evaluación de la vigilância microbiológica de alimentos que se vendem em las calles. Rev Cubana Aliment Nutr. 1998; 12: 7-10.

Unterman F. Microbial hazards in food. Food Control. 1998; 9: 119-126.

[USDA] United States Department of Agriculture. [homepage na internet]. Commercial item description formula, infant. c2006. [acesso em 12 de abril de 2006] Disponível em: <<http://www.ams.usda.gov/fga/aa20172b.pdf>>.

Vatn MH. Symptoms and manifestations of food intolerance. Environmental Toxicology and Pharmacology. 1997; 4: 51-53.

Vanderzant C, Splittstoesser, DF. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3a ed. Washington: APHA. 1992.

Varnam AH, Evans MG. Foodborne pathogens: an illustrated text. Mosby-Year Book: London. 1991. 557p.

Vesa TH, Marteau PR, Briet FB, Flourié B, Briend A, Rambaud JC. Effects of milk viscosity on gastric emptying and lactose intolerance in lactose maldigesters. Am J Clin Nutr. 1997; 66: 123-6.

Vidal-Martins AMC, Rossi JR, Rezende-Lago NC. Microorganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. Arq Bras Med Vet Zootec. 2005; 57 (3): 396-400.

Vieira GO, Silva LR, Vieira TO, Almeida JAG, Cabral VA. Hábitos Alimentares de Crianças Menores de 1 ano Amamentadas e Não-amamentadas. J Pediatr. 2004; 80: 411-6.

Waterland RA, Berkowitz RI, Stunkard AJ, Stallings VA. Calibrated-orifice nipples for measurement of infant nutritive sucking. J. Pediatr. 1998; 132(3): 523-526.

Waterlow JC, Thomson AM. Observations on the adequacy of breast-feeding. Lancet. 1979; 2: 238-242

Watt B, Merrill AL. Composition of foods: raw, processed, prepared. Washington, DC: Consumer and Foods Economics Research Division/Agricultural Research Service. 1963.

Wolff CH, Segal F, Wolff F, Zelmanowicz. [homepage da internet]. Intolerância a Lactose. C2003 [acesso em 22 de março de 2004]. Disponível em: <<http://www.abcdasaude.com.br>>.

[WHO] World Health Organization. [homepage da internet]. Recommended International Code of Hygienic Practice for Foods for Infants and Children (including Microbiological Specifications and Methods for Microbiological Analysis). c1979. [acesso em 15 de setembro de 2005]. Disponível em: <<http://www.euro.who.int/foodsafety/Assistance/20050322.4>>

Yang A, Castro FFM, Penterich VRA. Reação adversa a alimentos. In: Lopes A, editor. Diagnóstico e tratamento, vol. 1. São Paulo: Manole; 2006. p.309-17.

Yang A, Cohon A. Dermatite atópica. In: Lopes A, editor. Diagnóstico e tratamento, vol. 1. São Paulo: Manole; 2006. p.301-08.

ANEXOS

ANEXO 1



Universidade de São Paulo

Faculdade de Saúde Pública

COMITÊ DE ÉTICA – COEP

Av. Dr. Arnaldo, 715 – CEP 01246-904 – São Paulo – Brasil

Telefones: (55-11) 3066-7779 – fone/fax (55-11) 3064-7314 – e-mail: mdgracas@usp.br

Of. COEP/133/04

30 de agosto de 2004

Pelo presente, informo que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo-COEP, analisou, o Protocolo de Pesquisa n.º 1179, intitulado: “UTILIZAÇÃO DO HIDROLISADO DE FRANGO EM PREPARAÇÕES PARA CRIANÇA DE 0 A 12 MESES COM ALERGIA E/OU INTOLERÂNCIA AO LEITE”, apresentado pela pesquisadora Vanessa Ramos Alves Penterich, e por não se tratar de pesquisa envolvendo diretamente seres humanos, não há necessidade de parecer deste Comitê.

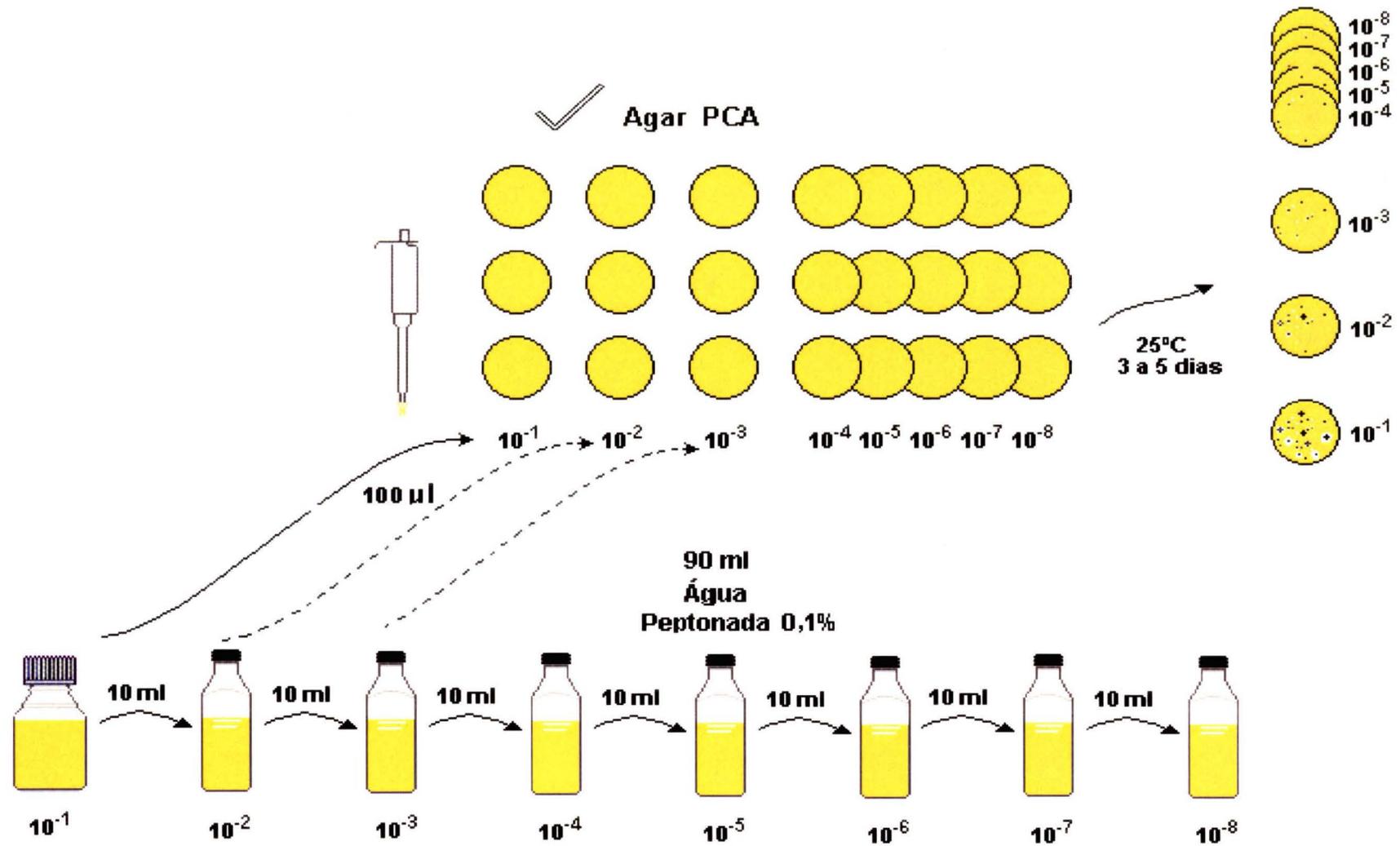
Atenciosamente,

Eunice Aparecida Bianchi Galati
Professora Doutora

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da FSP-COEP

ANEXO 2

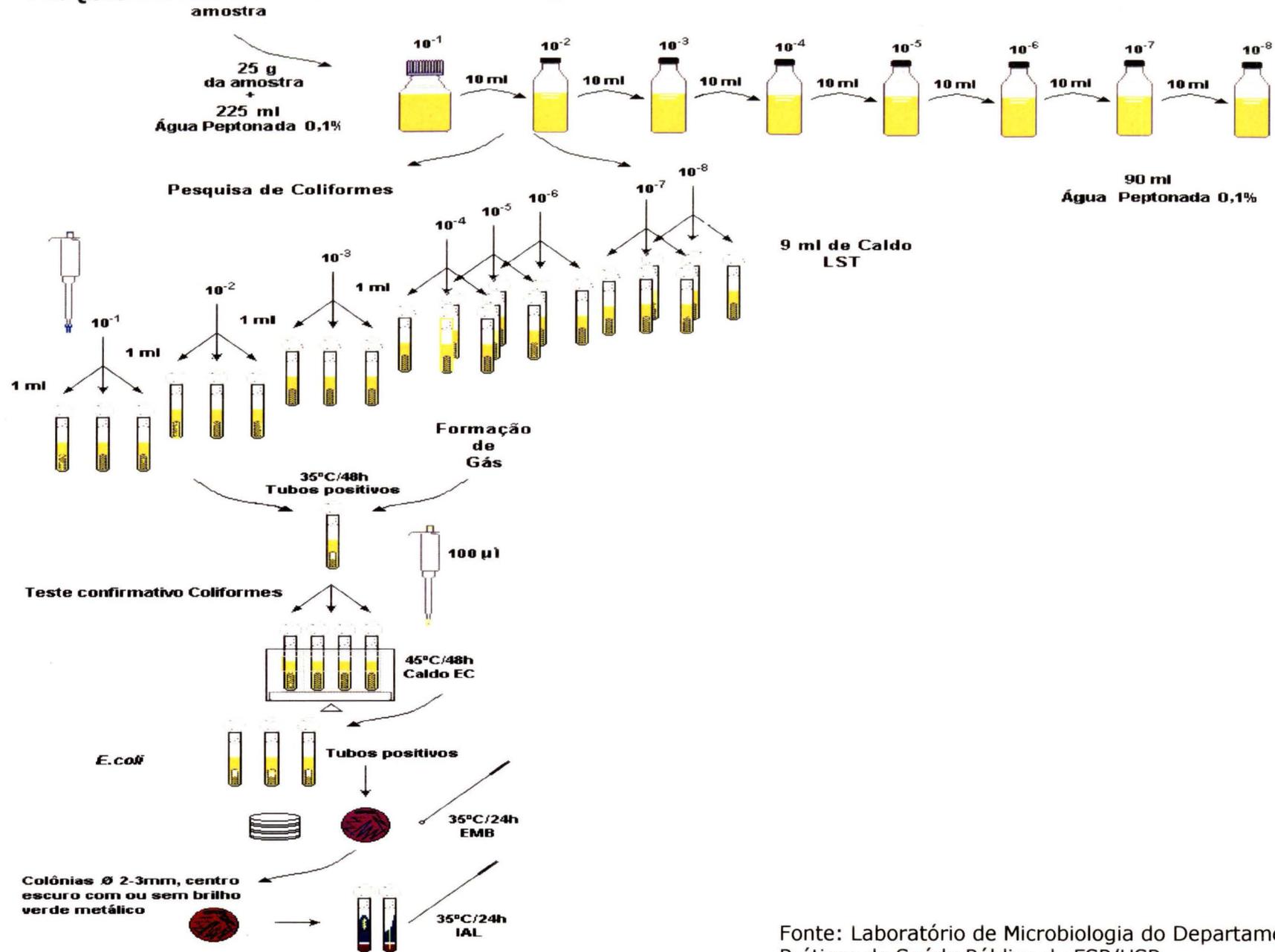
PESQUISA DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS



Fonte: Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública da FSP/USP

ANEXO 3

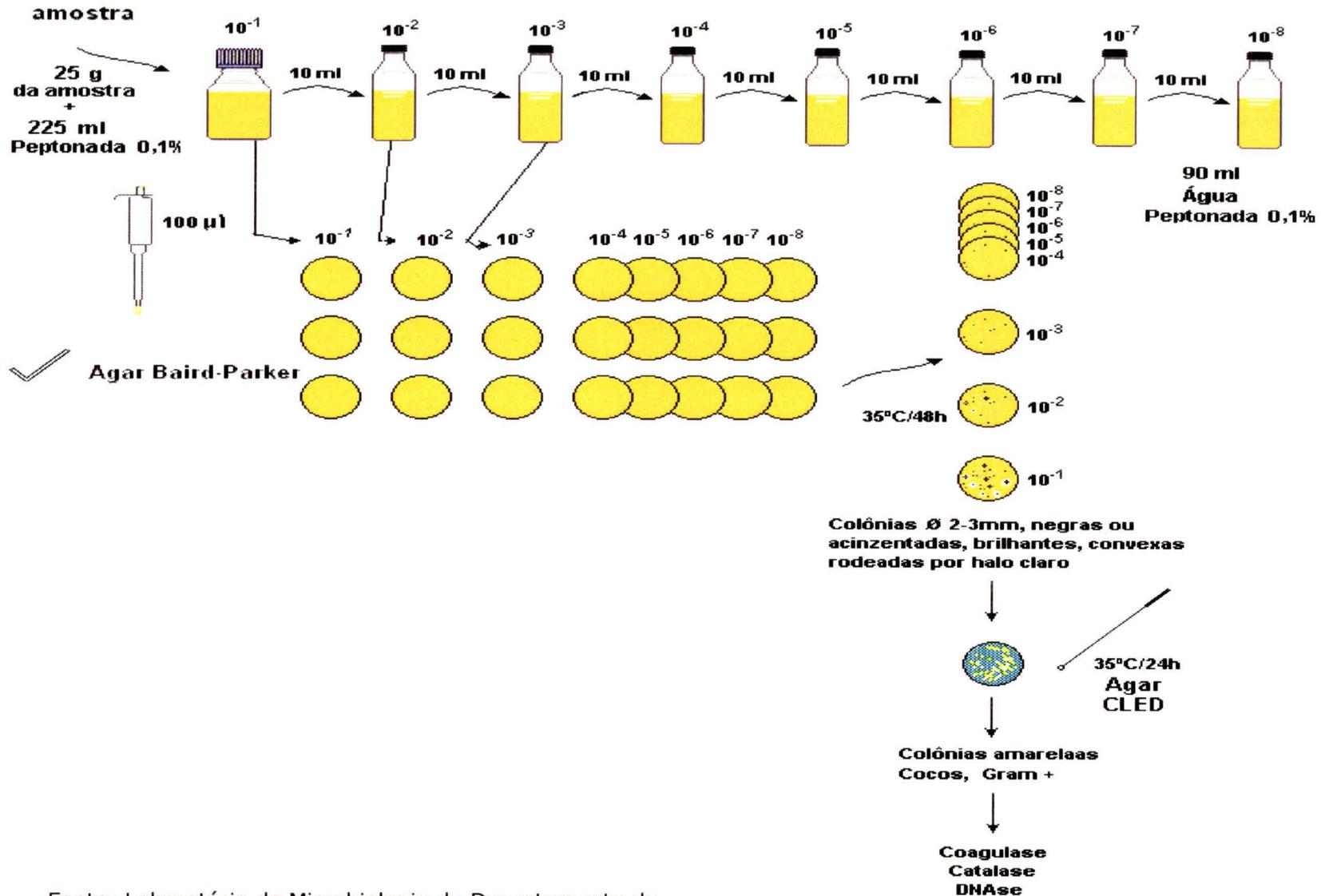
PESQUISA DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES



Fonte: Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública da FSP/USP

ANEXO 4

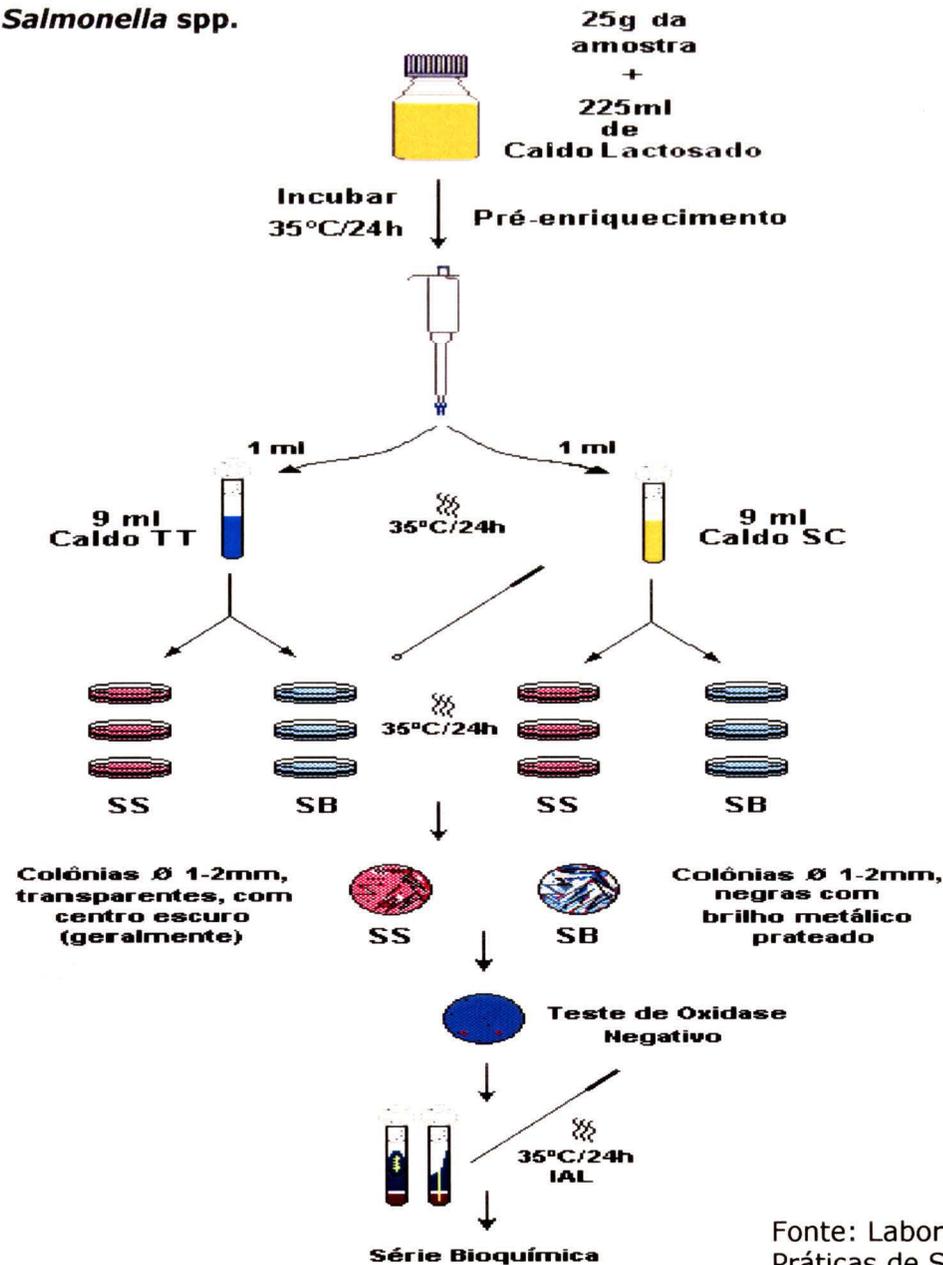
PESQUISA DE *Staphylococcus aureus*



Fonte: Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública da FSP/USP

ANEXO 5

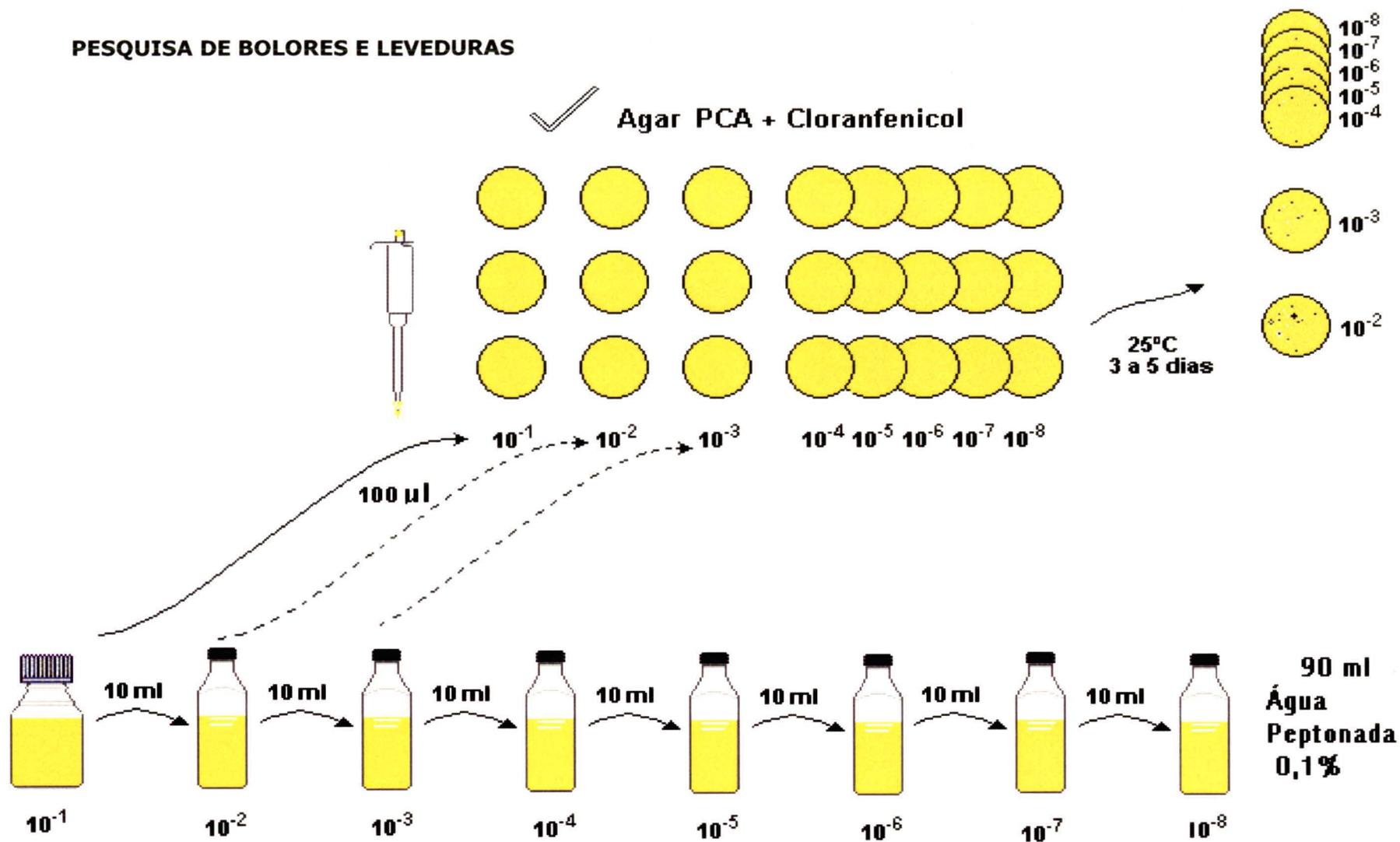
PESQUISA DE *Salmonella* spp.



Fonte: Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública da FSP/USP

ANEXO 6

PESQUISA DE BOLORES E LEVEDURAS



Fonte: Laboratório de Microbiologia do Departamento de Práticas de Saúde Pública da FSP/USP