

Avaliação microbiológica de bactérias aeróbias mesófilas no leite in natura produzido em uma associação rural em Garanhuns-PE

Microbiological evaluation of aerobic mesophilic bacteria in fresh milk produced in a rural association in Garanhuns-PE

Resumo:

Um dos maiores problemas na produção leiteira do Brasil é o desvio negativo na qualidade do processo primário, que abrange todo o manejo inicial da ordenha, resultando em grandes perdas em toda a cadeia. Com o intuito de verificar tais perdas, realizou-se uma avaliação da qualidade do leite in natura em uma associação de cinco produtores rurais em Garanhuns/PE. Na contagem de aeróbios mesófilos, aplicou-se a diluição seriada junto à técnica pour plate. Além disso, foram realizadas coletas de swabs no tanque de resfriamento e coleta de água para análise microbiológica, coleta de leite para análise físico-química e verificou-se a adoção de boas práticas pelos produtores. Para a validação estatística dos dados, foram utilizadas a Análise de Variância e o Teste de Tukey ($p \leq 0,05$), sendo observadas diferenças significativas na população de mesófilos entre os diversos leites dos produtores. Constatou-se que dois dos cinco produtores apresentaram o leite fora dos padrões exigidos, e que juntos eles correspondem a 63% da produção mensal de leite, comprometendo a qualidade do leite da associação rural. Não houve proliferação significativa de bactérias mesófilas no leite cru refrigerado a 4 °C no intervalo de 24 h. Os resultados demonstraram que, apesar de a maioria dos produtores estarem dentro dos parâmetros exigidos, a produção foi comprometida por alguns produtores. Dessa forma, para garantir um produto final de qualidade, é necessário o emprego de boas práticas desde o início da cadeia produtiva.

Abstract:

One of the major problems of dairy production in Brazil is the negative deviation in the quality of the primary process, which concerns initial management of milking, resulting in great losses for the entire production chain. In order to verify such losses, we performed an assessment of the quality of fresh milk produced by an association of five farmers in Garanhuns/PE. The serial dilution technique by the pour plate technique was used for aerobic mesophilic count. Furthermore swabs from cooling tank and samples of water were taken for microbiological analysis, milk samples were collected for physical-chemical analysis and was verified if the farmers adopt good dairy practices. ANOVA and Tukey tests ($p \leq 0.05$) were used for statistical validation of the data, with significant differences in the mesophilic population among the various milk producers. It was found that two of five dairy farmers produce milk below the standards required, and together they represent 63% of monthly milk production, compromising the quality of the milk from rural association. No significant proliferation of mesophilic bacteria was detected in the raw milk cooled to 4 °C over 24 hour. The results showed that, although most of the producers are within the required parameters, production was compromised by some farmers. Thus, to ensure the quality of the final product, the use of good practices from the beginning of the production chain is required.



**Sérgio C. Claudino-Filho¹,
Elizabel O. Silva²,
Vladimir Mota Silveira-Filho³,
Elisângela R. Castanha⁴**

¹Graduando do curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Pernambuco-UPE, campus Garanhuns. E-mail: sergiocandido1@hotmail.com

²Zootecnista, Professora do Instituto de Tecnologia de Pernambuco

³Médico Veterinário, Professor Adjunto do curso de Ciências Biológicas

⁴Biomédica, Professora Assistente do curso de Medicina

Contato principal:

Sérgio C. Claudino-Filho¹



Palavras chave: produção leiteira, qualidade microbiológica, boas práticas

Keywords: dairy production, microbiological quality, good practices



INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o quarto maior produtor de leite do mundo, com um volume médio de 30,5 bilhões de litros por ano, segundo dados da FAO (2014). Em 2014, a Região Nordeste fechou o ano com um volume de aproximadamente 1,3 bilhões de litros, onde Pernambuco apareceu como terceiro no ranking de produção, com um volume de 227,6 milhões de litros (IBGE, 2015). A atividade leiteira de Pernambuco concentra-se na região Agreste, responsável por 73% da produção, atingindo cerca de 2 milhões de litros por dia, de acordo com o Sindicato das Indústrias de Laticínios e Produtos Derivados do Estado de Pernambuco (Sindileite/PE).

A alta quantidade de nutrientes torna o leite suscetível ao crescimento de vários microrganismos podendo assim, servir como um meio de cultura para bactérias deteriorantes, que impactam na qualidade do leite ou derivados, e bactérias patogênicas, as quais podem comprometer a saúde do consumidor (REIS et al., 2013). A Contagem Bacteriana Total (CBT) no leite in natura é uma técnica quantitativa de extrema importância, utilizada para discriminar a confiabilidade microbiológica desse alimento. Assim, caso ocorra alguma falha no processo de obtenção do leite, é inevitável a proliferação de microrganismos indesejados, refletindo em perdas na produção e no mercado consumidor (ATAÍDE et al., 2008). Logo, é necessário adotar todo um conjunto de medidas que reduza o impacto de fatores extrínsecos que venham comprometer o leite, desde a produção até o consumidor final.

Os aeróbios mesófilos (AM) possuem seu crescimento ótimo em temperaturas medianas (~32 °C). Estes microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, podem ser encontrados em animais de sangue quente, bem como em ambientes terrestres e aquáticos (MADIGAN et al., 2010). Esses contaminantes mesófilos agrupam grande parte dos agentes que deterioram rapidamente os alimentos e dos agentes patogênicos, que podem oferecer riscos à saúde do consumidor (BRITO et al., 2007). Segundo Madigan (2010), além de infecção, o leite pode servir como fonte de intoxicação alimentar, através da ingestão de toxinas pré-formadas.

Dessa forma, a qualidade do leite assume um papel de destaque na saúde pública, e demonstra a relevância das medidas de controle sanitário dos alimentos destinados ao consumo humano,

particularmente das matérias primas de origem animal (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004). Assim, o controle do leite e produtos lácteos tem como objetivo básico assegurar a inocuidade ao consumidor, pois a contaminação com certos microrganismos e/ou suas toxinas, constituem as causas mais frequentes de problemas sanitários (PADILHA et al., 2001).

Uma alta incidência de mesófilos pode ser indicador de uma baixa higienização, que se estende desde o manejo na ordenha até seu transporte ao destino final. Uma série de fatores contribui para a proliferação de AM no leite, dentre eles destacam-se: sanidade do rebanho; higienização do curral de espera, sala de ordenha e ordenhador; sanitização dos utensílios e equipamentos; potabilidade da água utilizada na propriedade; refrigeração e transporte do leite para a empresa destinatária (SILVA et al., 2010). Dessa forma, consideram-se as boas práticas na ordenha, um conjunto de medidas que deverão ser adotadas constantemente na propriedade rural, reduzindo as vias de contaminação por bactérias indesejadas, obtendo-se um leite de qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

a) Área de estudo e coleta de amostras

O estudo foi realizado em uma associação de produtores rurais, localizada nas proximidades da BR 424 no quilômetro 04, no Sítio Capoeiras, Zona Rural do município de Garanhuns/PE (Figura 1).

O estudo foi conduzido conforme as normas da Instrução Normativa N° 62 do MAPA (BRASIL, 2011). Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia e Inovação Terapêutica da UPE Campus Garanhuns. As amostras de leite cru foram analisadas em triplicata, e codificadas pelas letras A, B, C, D e E, representando cada produtor. Foram realizadas três coletas, na primeira ordenha do dia, em dias diferentes do mês de setembro de 2014, no final da estação do inverno.

As amostras foram coletadas em tubos estéreis (Falcon 15 mL) e posteriormente acondicionadas em caixas isotérmicas para transporte até o laboratório onde foram submetidas à análise microbiológica (contagem de AM). O acompanhamento do leite no resfriador teve início no momento em que todos os produtores inseriram o leite no tanque de resfriamento, esperando-se um intervalo de 4 h, para a realização da primeira coleta. Assim, totalizando um acompanhamento de 24 h, com intervalos entre coletas de 6 h, e considerando-se 2

h a mais para a última coleta. As análises físico-químicas das amostras de leite foram realizadas in loco.

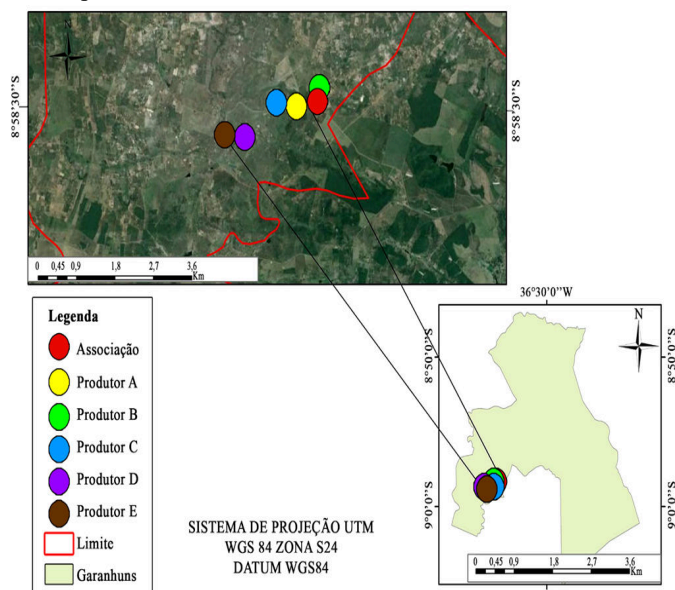


Figura 1. Mapa de Garanhuns/PE, com a localização da associação e seus respectivos produtores.

b) Contagens de aeróbios mesófilos

Para a contagem de AM no leite in natura, realizou-se uma diluição seriada e utilizou-se a técnica de semeadura pour plate (BRASIL, 2003). A diluição seriada utilizada para o leite foi de 10^{-5} , aplicando-se inicialmente 1 parte de leite e 9 partes de solução salina peptonada 0,1%. As diluições do leite foram distribuídas em placas de Petri estéreis em triplicatas, em seguida, acrescentou-se 12 mL do meio de cultura Plate Count Agar (PCA) a 46-48 °C e homogeneizou-se imediatamente. Após solidificação do meio, as placas foram incubadas invertidas, durante o período 48 ± 3 h a 32 °C, com resultados expressos em UFC mL⁻¹, de acordo com os critérios do Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA (BRASIL, 1981).

Os parâmetros aplicados para estabelecer a qualidade do leite in natura são referentes à CBT encontrada, considerando-se o máximo de 300.000 bactérias para cada mililitro de leite, conforme a Instrução Normativa N° 62 do MAPA (BRASIL, 2011). Utilizou-se o software estatístico BioEstat (versão 5.0) para avaliar a significância dos microrganismos mesófilos encontrados no leite, realizando-se a Análise de Variância (ANOVA) junto ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

c) Análises físico-químicas do leite

As análises físico-químicas foram realizadas in loco. A metodologia utilizada foi baseada no Manual de Controle de Qualidade de Leite e Derivados (CASTANHEIRA, 2012). A análise da temperatura foi realizada com um termômetro digital modelo Minipa Espeto, já o pH do leite foi identificado com Papel Indicador de pH 0-14 (Merck). Para avaliar a estabilidade térmica do leite ao alizarol, amostras de leite foram adicionadas a solução alcoólica 78 °GL de alizarina (indicador de pH). A estabilidade do leite é considerada normal quando não ocorre coagulação, e, quando há formação de grumos, o leite é considerável instável.

d) Análise microbiológica do tanque de resfriamento

Na contagem de AM do swab coletado no tanque de resfriamento, foi utilizada a técnica de semeadura pour plate em meio PCA, com ausência de diluição da amostra. A semeadura realizada em duplicatas, sendo as placas invertidas e incubadas a 32 °C por 48 ± 3 h (BRASIL, 1981) e o resultado foi expresso em UFC mL⁻¹. Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes utilizou-se o sistema Petrifilm™ EC. As análises foram realizadas em duplicatas e incubadas conforme a indicação do fabricante.

e) Análise microbiológica da água

A qualidade microbiológica da água, utilizada pela associação para a lavagem dos utensílios, também foi avaliada, seguindo a portaria 2.914/11 do MS. Para contagem de AM em água, utilizou-se o mesmo procedimento descrito para o leite, porém sem a utilização da diluição seriada. Segundo a mesma portaria, considerou-se 500 UFC mL⁻¹ como o limite máximo de bactérias heterotróficas presentes na água.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados da associação rural, a média de produção mensal gira em torno de 452 L de leite, onde o produtor C é responsável por mais da metade dessa produção (Figura 2).

A contagem de mesófilos determina o número de microrganismos viáveis presentes no leite sendo que altas contagens no leite cru podem indicar falhas de higiene e no comprometimento da qualidade (FERREIRA, 2007). A média na contagem de AM por produtor foi de $6,7 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ para o produtor A, 2×10^5 UFC mL⁻¹ para o produtor B, $4,5 \times 10^5$

UFC mL⁻¹ para o produtor C, $8,9 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ para o produtor D e $5,1 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ para o produtor E. De acordo com os parâmetros da Instrução Normativa nº62 do MAPA (BRASIL, 2011), constatou-se que três dos cinco produtores (A, B e D) produzem leite dentro dos padrões exigidos. Juntos, esses produtores correspondem a 37% da produção mensal de leite na associação. Já os produtores C e E apresentaram quantidades de AM no leite fora dos padrões recomendados. Como esses produtores detêm 63% da produção mensal, isso compromete a qualidade de todo leite produzido na associação, durante a mistura no tanque de resfriamento.

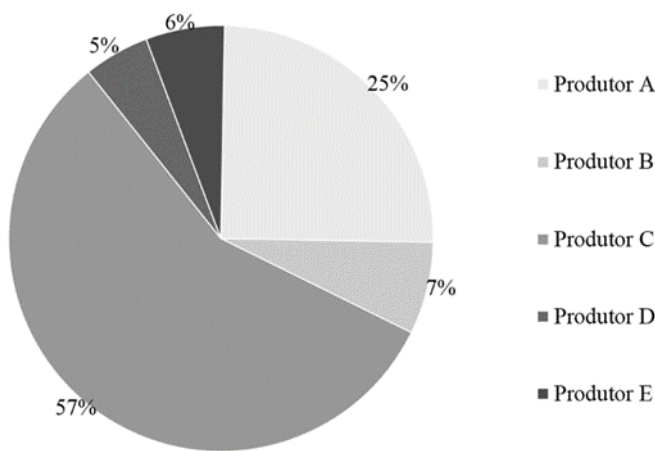


Figura 2. Percentual da produção de leite por produtor (452 L por mês)

Além disso, observou-se que os produtores A, B, C e D possuem uma quantidade de AM estatisticamente similar, enquanto o leite do produtor E difere peremptoriamente de todos os demais (Tabela 1).

Zeni et al. (2013) destaca que o Brasil, de uma maneira geral, ainda produz leite in natura de baixa qualidade e cita que os principais fatores que contribuem para a proliferação de agentes contaminantes são a influência das estações do ano, as práticas de produção e manuseio na fazenda, a localização geográfica, a temperatura de permanência do leite e a distância do transporte entre a fazenda e a plataforma de recepção da indústria. Algum ou alguns desses fatores poderiam justificar a baixa qualidade microbiológica do leite produzido nas propriedades C e E.

Em virtude de evidências como essas, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) resolveu criar políticas para garantir

qualidade da produção leiteira, estabelecendo limites toleráveis na contagem de bactérias mesófilas viáveis no leite cru. Segundo Ataíde et al. (2008), assegurar a qualidade do leite ainda na fonte, refletirá na qualidade dos derivados lácteos, tonando-se imprescindível os cuidados pré-, durante e pós-ordenha (ATAÍDE et al., 2008).

As análises físico-químicas do leite in natura para os produtores atenderam aos padrões estipulados por BRASIL (2011) e Castanheira (2012) (Tabela 2). Com relação às boas práticas na ordenha, observou-se que o pré- e pós-dipping era realizado apenas pelo produtor A, ainda assim 100% dos produtores apresentaram o rebanho sadio. Matsubara et al. (2011) constatou que a adoção das boas práticas de ordenha levaram a uma redução de 99,9% de aeróbios mesófilos, em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano.

Tabela 1. Comparativo entre as médias na contagem de AM por produtor de leite pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (BioEstat 5.0)

Comparativo entre produtores	Diferença	Diferença mínima significativa (Q)	Significância (p)
Médias (A e B)	133555.6667	0.3046	Diferença não-significativa
Médias (A e C)	378000.3333	0.8622	Diferença não-significativa
Médias (A e D)	22333.3333	0.0509	Diferença não-significativa
Médias (A e E)	503333.667	11.4811	Diferença significativa (< 0,01)
Médias (B e C)	244444.6667	0.5576	Diferença não-significativa
Médias (B e D)	111222.3333	0.2537	Diferença não-significativa
Médias (B e E)	4899778	11.1764	Diferença significativa (< 0,01)
Médias (C e D)	355667	0.8113	Diferença não-significativa
Médias (C e E)	465533.333	10.6189	Diferença significativa (< 0,01)
Médias (D e E)	5011000.333	11.4301	Diferença significativa (< 0,01)

A refrigeração do leite cru, após a ordenha, tem a finalidade de minimizar a multiplicação de mesófilos, que são responsáveis pela produção de ácido láctico a partir da degradação da lactose, promovendo acidificação do leite (DAMARESKI et al., 2010). Pinto, Martins & Vanetti (2006) citam que a elevada contaminação nas amostras de leite cru refrigerado

pode estar associada com procedimentos de higienização inadequados no sistema de produção. A deficiência das boas práticas na ordenha pode comprometer toda a qualidade do leite, com uma shelf-life (vida de prateleira) de curto período de tempo, afetando diretamente o consumidor que está cada vez mais rigoroso quanto à qualidade dos produtos adquiridos e espera que o tempo de vida de prateleira desse alimento alcance rigorosamente o prazo estabelecido pelo fabricante.

Os resultados da contagem microbiana nas amostras de leite do tanque de resfriamento revelaram oscilações no número de UFC mL⁻¹ ao longo do dia, como apresentado na Figura 3. Acredita-se que essas oscilações foram decorrentes da constante entrada de leite recém-ordenhado e inserido ao tanque de resfriamento, gerando variações na temperatura do mesmo. Sabe-se que, com grande relevância, a temperatura influencia diretamente na carga microbiana inicial do leite.

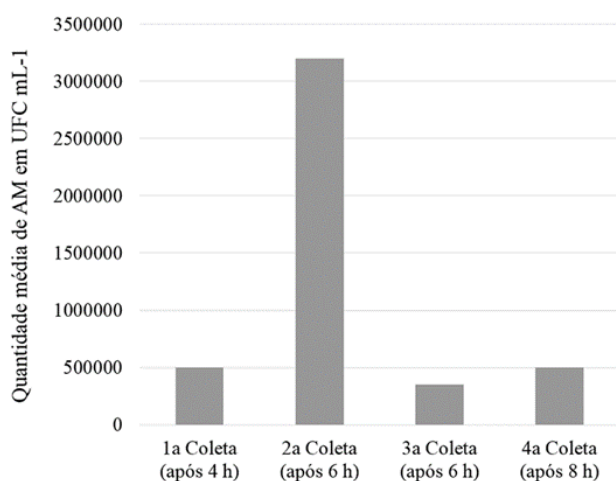


Figura 3. Contagem de bactérias aeróbias mesófilas (AM) no leite coletado do resfriador em um período total de 24 h

Silva et al. (2011) constatou que a entrada frequente de leite em temperatura ambiente no resfriador leva a redução da eficiência da refrigeração. Porém, este autor encontrou resultados diferentes, quanto ao período de refrigeração para 24 h, onde observou um aumento significativo de bactérias mesófilas no início da refrigeração ($6,1 \times 10^7$ UFC mL⁻¹) e após 24 h sob-refrigeração ($4,5 \times 10^{10}$ UFC mL⁻¹).

Apesar de terem sido observadas oscilações no crescimento bacteriano para o leite no resfriador, no período de 24 h, a Análise de Variância apresentada na Tabela 3, indicou que não houve uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias de contagens

de AM. Assim, baixas temperaturas controlaram o desenvolvimento da população mesofílica, quando esta não for significativa.

Tabela 3. Análise de Variância (ANOVA) fator único, na avaliação da diferença significativa entre as médias da contagem de mesófilos e os períodos de coleta no tanque de resfriamento (BioEstat 5.0)

Fontes de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio
Tratamentos	3	16.9 e+12	56.4 e+11
Erro	8	52.0 e+12	65.0 e+11
F =	0.8670	-	-
(p) =	0.5014	-	-

Os resultados físico-químicos para o leite coletado do resfriador apresentaram-se resultados satisfatórios (Tabela 4). A temperatura durante a coleta atendeu aos requisitos exigidos em BRASIL (2011). Nero, Viçosa e Pereira (2009) citam que a não refrigeração do leite, após a ordenha, tem como consequência o desenvolvimento e aumento significativo de AM. As análises de pH e alizarol estavam de acordo com os padrões preconizados pela legislação vigente. Os parâmetros físico-químicos não apresentaram variação relativa aos valores mensurados no leite antes do resfriamento.

O resfriador é um ponto crítico de contaminação, logo deve ser levado em consideração sua higienização e controle microbiológico. Os resultados laboratoriais para o swab obtido na parede do resfriador foram satisfatórios (Tabela 5), com índices baixos e ausência dos microrganismos testados. Esses resultados estão de acordo com as observações realizadas por Silva et al. (2011) que coletaram swabs em 8 pontos dentro da propriedade rural, e constataram que o resfriador apareceu em terceiro lugar como ponto mais contaminado.

Tabela 4. Média dos resultados para o resfriador durante a coleta

Resfriador	Temperatura (°C)	pH	Prova do alizarol
1ª Coleta (após 4 h)	4,4	6,00	Normal
2ª Coleta (após 6 h)	4,1	6,00	Normal
3ª Coleta (após 6 h)	4,0	6,00	Normal
4ª Coleta (após 8 h)	4,0	6,00	Normal

Sabe-se que, a água insalubre pode contribuir para a contaminação dos utensílios e equipamentos de ordenha, comprometendo a qualidade do leite (SILVA et al., 2011). Entretanto, a água utilizada pela associação também apresentou um resultado microbiológico satisfatório (Tabela 5), dentro dos padrões vigentes (< 500 UFC mL⁻¹) conforme a portaria 2914/11 do MS (Tabela 5).

Tabela 5. Contagens médias de microrganismos aeróbios mesófilos (AM), coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (EC)

Bactérias	Swab em resfriador	Água da associação
AM	28 UFC mL ⁻¹	84 UFC mL ⁻¹
CT	Ausência	-
EC	Ausência	-

CONCLUSÕES

A integridade do consumidor não pode ser ameaçada por falhas primárias na produção do leite, onde a elevada quantidade de mesófilos aumenta consideravelmente os riscos à saúde pública. Apesar de 60% dos produtores atenderem aos requisitos de qualidade microbiológica do leite, os outros 40% comprometem todo o restante da produção da associação rural, por produzirem um volume maior de leite ao mês com contagem microbiana superior àquela permitida por lei.

As falhas no processamento e transporte do leite in natura são fatores que podem alterando diretamente a carga microbiana primária nessas propriedades, dessa forma o produto já entra no tanque de resfriamento com um número considerável de microrganismos mesófilos. Dessa forma, ratificasse-se a necessidade de uma capacitação, orientação e acompanhamento junto aos produtores de leite,

principalmente aos pequenos produtores, sobre a importância do manuseio adequado e boas práticas de produção do leite.

Um controle de higiene e sanidade animal, atrelado a uma logística melhor no transporte do leite, ao menos nos produtores C e E, garantiria à associação de produtores rurais um leite mais seguro e de maior qualidade. Entretanto, mais estudos são necessários com outros microrganismos e/ou em outras localidades a fim de corroborar a necessidade de um melhor monitoramento e orientação dos produtores quanto à importância da qualidade do leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATAÍDE, W. S.; MACIEL, J. F.; LIMA, P. L. A.; LIMA, A. R. C.; SILVA, F. V. G.; SILVA, J. A. Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, v.67, n.1, p.73-77, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Diário Oficial da União. Brasília, 2011. Seção I, 36p.

_____. Ministério da Agricultura. LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL (LANARA). Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I- Métodos microbiológicos. Brasília: LANARA, 1981.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, 2003.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Diário Oficial da União, 2011.

BRITO, M. A.; BRITO, J. R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. Tipos de Microrg. Embrapa, Brasília, 2007. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_182_21720039246.html>.

CASTANHEIRA, A. C. G. Controle de Qualidade de leite e Derivados: Manual Básico. 2 ed. São Paulo: Cap-Lab Indústria e Comércio Ltda, 2012. 116p.

- DAMARESKI, J. L.; BANDEIRA, N. S.; SATO, R. T., ARAGON-ALEGRO, L. C., SANTANA, E. H. W. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. Caracas, v.60, n.3, p.261-268, 2010.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Ciência Rural*. Santa Maria, v.34, n.4, p.1315-1320, 2004.
- FERREIRA, M. A. SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS (SBRT). Dossiê Técnico: Análises Microbiológicas para Qualidade do Leite Fluido. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico/UnB, set. 2007.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT, commodities by country. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Publicado em 23 out. 2014.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. INDICADORES (IBGE). Estatística da Produção Pecuária: Março 2015. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201404_publ_completa.pdf>.
- MATSUBARA, M. T. et al. Boas práticas de ordenha para redução da contaminação microbiológica do leite no agreste Pernambucano. *Semina: Ciências Agrárias*. Londrina, v.32, n.1, p.277-286, 2011.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. *Microbiologia de Brock*. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160p.
- NERO, L. A.; VIÇOSA G. N.; PEREIRA, F. E. V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. *Ciência Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v.29, n.2, p.386-390, 2009.
- PADILHA, M. R. F. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Recife, v.34, n.2, p.167-171, 2001.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.26, n.3, p.645-651, 2006.
- REIS, K. T. M. G.; SOUZA, C. H. B.; SANTANA, E. H. W.; ROIG, S.M. Qualidade Microbiológica do Leite Cru e Pasteurizado Produzido no Brasil: Revisão. [UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde](#). Paraná, n.15, p.411-21, 2013.
- SILVA, L. C. C.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; OVIDIO, L.; MATTOS, M. R.; ARRUDA, A. M. C. T.; PIRES, E. M. F. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.32, n.1, p.267-276, 2011.
- SILVA, V. A. M.; RIVAS, P. M.; ZANELA, M. B.; PINTO, A. T.; RIBEIRO, M. E. R.; SILVA, F. F. P.; MACHADO, M. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru, do leite pasteurizado tipo A e de pontos de contaminação de uma Granja Leiteira no RS. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v.38, n.1, p.51-57, 2010.
- ZENI, M. P.; MARAN, M. H. S.; SILVA, G. P. R.; CARLI, E. M.; PALEZI, S. C. Influência dos microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. *Unoesc & Ciência - ACET*, Joaçaba, v.4, n.1, p.61-70, 2013.