

Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil.

Quality of raw milk produced in agreste region of Pernambuco, Brazil

Marcos Rodrigues de Mattos¹; Vanerli Beloti^{2*}; Ronaldo Tamanini¹;
Douglas Furtado Magnani³; Luis Augusto Nero⁴; Márcia de Aguiar Ferreira
Barros⁵; Edleide Maria Freitas Pires⁶; Benoit Pascal Dominique Paquereau⁷

Resumo

A qualidade do leite é um dos maiores problemas da cadeia do leite no Brasil, interferindo negativamente na produção e rendimento de derivados. No Estado de Pernambuco, não é diferente. Sendo o segundo maior produtor do Nordeste, Pernambuco tem sua maior produção de leite localizada na Região Agreste do estado, que fica entre a Zona da Mata e o Sertão. A produção de leite no Agreste, cresceu 23% nos últimos dois anos, chegando a 980 mil litros/dia. Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica e físico-química do leite cru produzido nesta região, foram coletadas amostras em 53 propriedades rurais, nos municípios de Saloá, Águas Belas, São Bento do Una e Bom Conselho. Enumeraram-se aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli* e estafilococos em placas de Petrifilm™ específicas (3M do Brasil Ltda.). A detecção de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* ssp foi realizada utilizando o sistema VIDAS (BioMerieux®). Organofosforados e carbamatos foram pesquisados pela técnica de Cromatografia em Camada Delgada. O teor de gordura, sólidos totais, sólidos não gordurosos, densidade, proteína e lactose foram obtidos por espectroscopia de em analisador ultra-sônico (US). Realizou-se ainda crioscopia, California Mastite Teste (CMT), peroxidase, acidez Dornic e Ring-test para monitoramento da presença de Brucelose nas propriedades. Nas análises microbiológicas, as amostras apresentaram altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, psicrotróficos e estafilococos coagulase positiva. A média de aeróbios mesófilos foi de $1,68\% \times 10^7$, sendo 83% acima de 10^6 . *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp não foram detectadas, 47% das amostras foram positivas para carbamatos, organofosforados ou ambos. No CMT 67,9% das amostras foram positivas, e no Ring test 26,4% das propriedades foram positivas. Assim, apenas 2 (3,77%) das amostras estariam dentro dos padrões estabelecidos pela IN 51.

Palavras-chave: Qualidade do leite, microbiologia do leite, físico-química do leite, leite de Pernambuco

¹ Programa de Pós Graduação em Ciência Animal (Sanidade Animal) da Universidade Estadual de Londrina, Londrina PR.

² Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL. CP: 6001, CEP: 86051-990, Londrina, PR, Brasil. E-mail: neli@sercomtel.com.br; lipoa.uel@gmail.com

³ Médico Veterinário Residente do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, DMVP, CCA, UEL, Londrina PR.

⁴ Docente do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG.

⁵ Docente da Faculdade de Agronomia e Veterinária Universidade de Brasília UnB, Brasília.

⁶ Docente da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

⁷ Gerente de Inovação do APL Pecuária Leiteira da Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco, Recife, PE.

* Autor para correspondência

Abstract

The poor quality of raw milk is the main problem in dairy industries, once it can directly interfere in the productivity and quality of dairy products. The Pernambuco is not different. Located between the Zona da Mata and the Sertão regions, is responsible for a daily milk production of 980,000 liters, and presented an increase of 23% in the last two years. This study aimed the evaluation of the microbiological and physical-chemical quality of raw milk produced in the Agreste region of Pernambuco. Raw milk samples were collected from 53 dairy farms located at the following cities: Saloá, Águas Belas, São Bento do Una and Bom Conselho. For microbiological analysis, all samples were plated for mesophilic aerobes, total coliforms, *Escherichia coli* and DNase positive staphylococci in specific Petrifilm™ (3M Microbiology, St. Paul, USA). *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. were detected using VIDAS system (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France). Organophosphorade and carbamates were detected by thin layer chromatography. Fat, protein, and lactose contents, total and non-fat solids, and density were obtained by ultrasound method using an automatic milk analyzer (Boecolac-60, Boeco, Hamburg, Germany). In addition, the raw milk samples were evaluated to cryoscopic, California Mastitis Test (CMT), peroxidase, Dornic acidity and Ring-test to brucellosis status of herds. In microbiological analysis, all samples presented high counts of the researched indicators microorganisms. The average of mesophilic aerobes was 1.68×10^7 with 83% of samples over 10^6 . *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp were not found, 47% of the samples were positive for organophosphates and/or carbamates, 67.9% of the samples were positive for CMT and 26.4% for ring test. Thus, only 2 (3.77%) samples were accordance with the established parameters of Instrução Normativa 51.

Key words: Milk quality, microbiology of milk, physical chemistry of milk, milk from Pernambuco

Introdução

A qualidade do leite é um dos maiores problemas da cadeia do leite no Brasil, interferindo negativamente na produção e rendimento de derivados (SANTOS, 2007). No Estado de Pernambuco, não é diferente. Sendo o segundo maior produtor do Nordeste e 10º do país, Pernambuco tem sua maior produção de leite localizada na Região Agreste do estado, que fica entre a Zona da Mata e o Sertão. A produção de leite no Agreste cresceu 23% nos últimos dois anos, chegando a 980 mil litros/dia e correspondendo a 73% do leite do estado (FIGUEIROA, 2006; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008).

No ano 2000, o Governo Federal em parceria com o Governo do Estado de Pernambuco, lançou o Programa Leite de Pernambuco que, entre outros benefícios, contribuiu para o desenvolvimento da produção leiteira no estado, dando destaque para as regiões do Agreste, Zona da Mata e Metropolitana de Recife (SECRETÁRIA DE PRODUÇÃO RURAL E REFORMA AGRÁRIA, 2006).

O Programa Nacional de Melhoria da Qualidade

do leite, que está sendo implantado no país pela Instrução Normativa nº 51 – IN51 (BRASIL, 2002), começou a vigorar no Sul, Sudeste e Centro Oeste a partir de 2005 e no Norte e Nordeste em 2007. A IN 51 determina, dentre outros aspectos, parâmetros físico-químicos e microbiológicos para o leite cru. Entretanto, o leite produzido em varias regiões do país ainda não atende os padrões determinados. Entre as principais causas dessa situação, estão as inadequadas condições de higiene de ordenha, procedimentos inadequados de limpeza de utensílios e equipamentos, e problemas ligados ao armazenamento do leite cru refrigerado e o seu transporte (NERO et al., 2008).

A IN 51 determina que o leite cru deve ser refrigerado já na propriedade e possuir uma contagem de aeróbios mesófilos máxima de 10^6 UFC/mL, devendo se limitar a um máximo de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL a partir de julho de 2010.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e a presença de resíduos de antibióticos e praguicidas no leite cru produzido na região agreste de Pernambuco.

Material e métodos

Com o intuito de representar o perfil de produção das unidades produtoras de leite da região do Agreste de Pernambuco, foram selecionadas, por indicação da Secretaria de Produção Rural e Reforma Agrária (SPRRA) do Estado de Pernambuco e da Cooperativa dos Produtores de Leite e Derivados de Pernambuco (COOPROL), 53 propriedades rurais, distribuídas nos municípios de Saloá, Águas Belas, São Bento do Una e Bom Conselho.

Foram coletados aproximadamente 500 mL de leite cru de cada propriedade em *bags* estéreis (NASCO®, EUA). As amostras foram coletadas diretamente nas propriedades, em tanques de expansão ou latões, dependendo da tecnificação de cada uma delas. Depois de coletadas, as amostras foram acondicionadas em ambiente isotérmico com gelo reciclável e encaminhadas para o Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos (LEAAL) da Universidade Federal de Pernambuco para a realização das análises laboratoriais.

Para pesquisa dos microrganismos indicadores, as amostras foram diluídas em solução salina estéril 0,85%, semeadas e incubadas conforme orientações do fabricante em placas Petrifilm™ AC para pesquisa de Aeróbios mesófilos (AM), e Petrifilm™ EC para coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (EC) e Petrifilm™ STX para Estafilococos coagulase positivos (ECP). Os psicotróficos (PS) foram semeados superficialmente em duplicata em ágar padrão para contagem (PCA) e incubados a 21°C por 25 horas (OLIVEIRA; PARMELEE, 1976; SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997). Os resultados das contagens foram corrigidos de acordo com as diluições utilizadas e expressos em UFC/mL.

Para detecção de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp foram utilizados os sistemas VIDAS listeria e VIDAS Salmonella (BioMerieux®), respectivamente.

As análises físico-químicas realizadas foram peroxidase (BRASIL, 2003), acidez Dornic (BRASIL, 2003), lactofermentação, California Mastite Test (CMT) (SCHALM; NOORLANDER, 1957) e Ring test (BRASIL, 2004)

Acrioscopia foi realizada utilizando-se crioscopia digital Laktron. LK- 7000 (LAKTRON, BRASIL).

O teor de gordura, sólidos totais, sólidos não gordurosos, a densidade, proteína e lactose foram obtidos por espectroscopia de em analisador ultrassônico (US) BOECOLAC 60 (BOECO, Alemanha), calibrado para a análise de leite de vaca.

A pesquisa de antibióticos beta-lactâmicos foi realizada com o kit Charm MRL Test (CHARM, Estados Unidos), conforme recomendações do fabricante.

A presença de organofosforados e carbamatos nas amostras de leite cru foi pesquisada pela técnica de Cromatografia em Camada Delgada, conforme metodologia AOAC International (1995).

Resultados e discussão

Nas análises microbiológicas as amostras apresentaram altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, psicotróficos e estafilococos coagulase positivos, conforme demonstrado na tabela 1. Estas análises também revelaram a ausência de *Salmonella* spp e de *Listeria monocytogenes* em todas as amostras.

Tabela 1. Contagens de aeróbios mesófilos (AM), coliformes totais (CT), *Escherichia coli* (EC), Estafilococos coagulase positiva (ECP) e psicrotróficos (PS) em 53 amostras de leite cru de propriedades leiteiras do agreste de Pernambuco, colhidas em 2005.

Contagens (UFC/mL)	AM		CT		EC		ECP		PS	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
Até 10 ²	0	0	0	0	0	0	2	3,8	0	0
10 ² – 10 ³	0	0	0	0	24	45,3	23	43,4	0	0
10 ³ – 10 ⁴	0	0	0	0	16	30,2	7	13,2	0	0
10 ⁴ – 10 ⁵	1	1,9	1	1,9	10	18,9	13	24,5	5	9,5
10 ⁵ – 10 ⁶	8	15,1	13	24,5	3	5,6	8	15,1	16	30,2
10 ⁶ – 10 ⁷	30	56,6	32	60,4	0	0	0	0	23	43,4
10 ⁷ – 10 ⁸	13	24,5	7	13,2	0	0	0	0	5	9,4
maior 10 ⁸	1	1,9	0	0	0	0	0	0	4	7,6
Total	53	100	53	100	53	100	53	100	53	100

A contaminação por AM apresentou 44 (83%) amostras com contagens acima de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL, limite estabelecido pela IN 51. A média das propriedades foi $1,68 \times 10^7$ UFC/mL, revelando que a maioria das propriedades apresentavam alta contaminação durante a ordenha e que as contagens estão acima dos padrões antes mesmo do leite sair da propriedade.

As altas temperaturas ambientais e dificuldades de escoamento da produção acabam induzindo a praticas como a adição de conservantes no leite. A adição de peróxido de hidrogênio foi identificada, embora não tenha sido realizada por prova específica, na prova da peroxidase que revela positividade com a adição da água oxigenada, várias amostras se mostraram positivas antes da adição deste reagente. Assim, as contagens médias seriam ainda maiores.

Nero et al. (2005) também demonstram a má qualidade do leite cru produzido, sendo que 37 (78,7%) das amostras analisadas em Viçosa MG, 22(44%) em Pelotas RS, 33 (52,4%) em Londrina PR e 16 (32%) em Botucatu SP estavam com contagens de AM acima de 1×10^6 UFC/mL, e portanto, em desacordo a IN 51. Moraes et al. (2005) analisaram amostras provenientes de 12 propriedades leiteiras localizadas no Rio Grande do Sul e encontram 9 (75%) fora padrões determinados para AM. Rosa

e Queiroz (2007) analisaram 20 amostras de leite cru provenientes do município de Canguçu (RS) e encontraram que 80,0% das amostras apresentam contagens de microrganismos AM acima do limite estabelecido.

As amostras analisadas apresentaram contagens de CT entre $1,5 \times 10^3$ FC/mL e $2,4 \times 10^7$ UFC/mL, sendo que 52 (98%) com contagens acima de 10^6 UFC/ml. Esses resultados indicam que as condições higiênicas de obtenção do leite foram insatisfatórias. É recomendado pela literatura que estas contagens não excedam a 100 UFC/mL (CHAMBERS, 2002).

As contagens de *Escherichia coli* variaram entre $3,6 \times 10^3$ UFC/mL e $1,08 \times 10^5$ UFC/mL, e sua presença tem significado importante, por ser um indicador de contaminação fecal e eventual presença de outros enteropatógenos, além disso, existem linhagens patogênicas para homens e animais.

Nero et al. (2004) encontram contagens de CT acima de 100 UFC/mL em 80,4% das 210 amostras de leite que estudaram, e a presença da *E. coli* em 36,8%. Arcuri et al. (2006) analisaram amostras de 24 propriedades situadas nas regiões Sudeste de Minas Gerais e Norte do Rio de Janeiro, e encontram contagens de coliformes totais entre 5 UFC/mL e $2,3 \times 10^3$ sendo que em 19 (79,2%) rebanhos as

contagens foram superiores a 100 UFC/mL. Moraes et al. (2005) analisaram amostras provenientes de 42 propriedades leiteiras, localizadas no Rio Grande do Sul, encontraram contagens de coliformes totais entre $2,3 \times 10^3$ e $3,0 \times 10^5$, e isolaram *E. coli* em leite cru em 19,0% das amostras. Catão e Ceballos (2001) relataram altas contagens CT e *E.coli* em 45 amostras de leite cru da região de Campina Grande-PB. Campos et al. (2006) analisaram 24 amostras de leite cru coletadas em um laticínio em Goiás e encontraram a presença de *E. coli* em 19 (79,2%).

ECP foram detectados em todas as amostras, sendo que as maiores contagens alcançaram $5,6 \times 10^5$ UFC/mL, indicando má qualidade na manipulação do produto. As intoxicações estafilocócicas ocorrem devido à ingestão de toxina pré formada no alimento, e são freqüentemente associadas à ingestão de 100 ng de enterotoxina (EE) e contagens entre 10^5 e 10^6 UFC de estafilococos/ g ou mL de alimento (LANCETTE; TATINI, 1992; PARK; AKTAR; RAYMAN, 1992; WONG; BERGDOLL, 2002). Além disso, a presença de ECP pode estar ligada à sanidade da glândula mamaria uma vez que ela é um dos principais agentes da mastite bovina (SANTOS; FONSECA, 2007). Santana et al. (2006) detectou ECP em 101 amostras de leite cru das regiões de Pelotas/RS e Londrina/PR, sendo que 19 (18,8%) apresentaram contagens acima de 10^5 UFC/mL. Também Lamaita et al. (2005) observaram ocorrência de estafilococos em 100% das oitenta amostras de leite cru refrigerado estudadas na região metropolitana de Belo Horizonte, sendo a média das contagens igual a $3,99 \times 10^5$ UFC/mL. Já Araujo (1998) estudou 100 amostras de leite das quais cinquenta foram positivas para *Staphylococcus* sp.

As contagens de bactérias psicotróficas variaram entre $3,0 \times 10^4$ e $14,0 \times 10^8$ UFC/mL. Zocche et al. (2002) afirmam que partir da implantação de sistemas de refrigeração do leite, esse grupo de bactérias ganhou destaque, uma vez que são capazes de crescerem e multiplicarem bem em temperatura de refrigeração, produtoras de proteases e lípases termoestáveis e que contagens a partir de 1×10^6 UFC/mL causam alterações significativas o leite, mesmo depois do tratamento térmico. Os resultados do presente trabalho concordam com os achados por Moraes et al. (2005) que encontraram valores acima de $4 \log_{10}$ ufc.mL⁻¹ em todas as amostras de 42 propriedades de cinco municípios do Rio Grande do Sul.

L. monocytogenes e *Salmonella* spp não foram detectadas em nenhuma amostra, embora fossem esperados, por estarem normalmente presentes no ambiente de ordenha. Provavelmente não tiveram condições de crescimento pela alta concentração de outros microrganismos competidores. Esses resultados concordam com os achados por Nero et al. (2004) que também não detectaram estes patógenos em 210 amostras nos estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Arcuri et al. (2006) não detectaram nenhuma *L. monocytogenes* em amostras de leite cru nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Padilha et al. (2001) também não encontraram este mesmo patógeno em 50 amostras de leite cru na região metropolitana de Recife-PE. Entretanto Catão e Seballos (2001) detectaram *L. monocytogenes* em 73% das 45 amostras de leite pesquisadas nos estados da Paraíba e Pernambuco.

Os resultados das análises físico-químicas estão expressos na tabela 2.

Tabela 2. Análises físico-químicas de 53 amostras do leite cru colhidas em propriedades leiteira da região do Agreste de Pernambuco, colhidas em 2005.

Análise	Média	Mínima	Máxima	fora do intervalo	Padrão*	
Densidade (15/15°C g/mL)	1,031	1,027	1,034	1	1,028 –1,0 34	
Acidez Dornic (g ác. láctico/100mL)	18,06	15	26	6	14-18	
Gordura (g /100 g)	3,74	1,44	5,19	3	Mín. 3%	
EST (g/100 g)	12,49	10,5	14,43	7	Mín. 11,4	
ESD (g/100 g)	8,74	7,63	9,27	7	Mín. 8,4	
Proteína (g/100 g)	3,18	2,78	3,4	1	Mín. 2,9	
Lactose (g/100 g)	4,77	4,16	5,13			
Crioscopia (H°)	-0,540	-0,593	-0,462	18	entre -0,530 e -0,550	
	Positivo	Negativo				
Peroxidase	53	0				
	Positivo	Negativo				
Ring Test	14	39				
	Esfacelado	caseoso	gelatinoso	liquido	caseoso/ esfacelado	
Lactofermentação	11	8	5	1	28	
	Negativo	+	++	+++	Ácido	Alcalino
CMT	17	25	8	1	1	1

* De acordo com Instrução Normativa 51 de 2002-

Os valores de acidez apresentaram média de 18,06° Dornic, no limite superior permitido. Os resultados da prova de lactofermentação também demonstram má qualidade do leite cru, indicando predominância de uma microbiota proteolítica em coágulos caseosos e coliformes em coágulos esfacelados. O valor de índice crioscópico médio foi de -0,540°H, sendo que em 6 amostras (3,18%) o índice estava acima de -0,530°H, mostrando fraude por adição de água.

Também deve-se se dar atenção para o California mastite teste (CMT), que apresentou 36 (67,9%) de positividade, embora com baixa gravidade (+ uma cruz), e indica a ocorrência fora de controle da mastite sub-clínica, nos rebanhos.

O ring test identificou 14 propriedades positivas (26,4%) demonstrando possibilidade da presença de brucelose entre os animais, e tornando perigoso o consumo deste leite sem tratamento térmico.

A presença de antibióticos beta-lactâmicos foi detectada em apenas uma (1,89%) amostra, o que indica baixa frequência de tratamento e também baixa ocorrência da mastite clínica, que pode estar relacionada à baixa produtividade dos animais. Almeida et al. (2003) pesquisando resíduos de beta-lactâmicos em 158 propriedades de Minas Gerais encontraram a presença em 1,89%. Nero et al. (2007a) encontraram resíduos de antibióticos em 24 (11,40%) das amostras, sendo 13 (20,60%) da região de Londrina – PR, 4 (8,00%) da região de

Botucatu – SP, 4 (8,50%) da região de Viçosa – MG, e 3 (6,00%) da região de Pelotas – RS.

Para presença de carbamatos, das 53 amostras, nove foram positivas, em 14 detectou-se organofosforados e duas foram positivas na detecção simultânea de carbamatos e organofosforados, o que representa 47% das amostras positivas para pelo menos um dos pesticidas. Cavaletti et al. (2007) pesquisando resíduos de praguicidas em 30 propriedades leiteiras nos municípios de Rolândia (8), Londrina (12) e Tamarana (4), no Estado do Paraná e Presidente Prudente (6) em São Paulo encontrou 12 (40%) amostras positivas para organofosforados e 15 (50%) para carbamatos. Nero et al. (2007b) detectaram a presença de pelo menos um dos princípios em 93,8% das 209 amostras de leite cru analisadas. Estes princípios são frequentemente utilizados como praguicidas na lavoura e constituem componentes de medicamentos para animais, sendo estas suas possíveis origens. A exposição crônica a esses compostos pode ser relacionada ao câncer, efeitos teratogênicos, toxicidade reprodutiva, deficiência cognitiva e alterações comportamentais e funcionais (ECOBICHON, 1996)

Conclusões

A qualidade microbiológica do leite produzido na região agreste de Pernambuco ainda não atende aos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa 51.

Listeria monocytogenes e *Salmonella* sp não tem condições de crescimento nas amostras de leite cru estudadas.

A ocorrência de mastite sub-clínica é alta e merece acompanhamento e melhor manejo deste animais.

A brucelose nas propriedades estudadas é preocupante, devendo-se proceder provas conclusivas.

Deve-se dar atenção a presença de carbamatos, organofosforados, buscando sua origem.

Agradecimentos

A Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e ao Ministério de Desenvolvimento Social e Reforma Agrária (MDS). Esta pesquisa faz parte do Projeto “Produção de leite com qualidade e segurança a partir da implantação de boas práticas na produção leiteira na região de Recife, Pernambuco”, financiado por estes órgãos.

Referências

ALMEIDA, L. P.; VIEIRA, L. R.; ROSSI, D. A.; CARNEIRO, A. L.; ROCHA, M. L. Resíduos de antibióticos em leites de propriedades rurais da região de Uberlândia-MG. *Journal of Biosciences*, Uberlândia, v. 19, n. 3, p. 83-87, set./dec. 2003.

AOAC INTERNATIONAL. *Official methods of analysis of AOAC International*. 16th ed. Gaithersburg: AOAC International, 1995. v. 1.

ARAUJO, W. P. Phage typing of *Staphylococcus aureus* resistant to antibiotics, isolated from milk. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 161-165, 1998.

ARCURI, E. F.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ÂNGELO, F. F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440-446, jun. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipo A, tipo B, tipo C e cru refrigerado. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 29 set. 2002, p. 13, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 6 de 8 de janeiro de 2004. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 2 maio 2003, p. 3, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22 de 14 de abril de 2003. Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 12 jan. 2004, p. 6, Seção 1.

- CAMPOS, M. R. H.; KIPNIS, A.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; VIEIRA, C. A. S.; JAYME, L. B.; SANTOS, P. S.; SERAFINI, A. B. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo “Minas Frescal” em um laticínio de Goiás, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1221-1227, jul./ago. 2006.
- CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e E.Coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 21, n. 3, p. 281-287, set./dez. 2001.
- CAVALETTI, L. C. S.; PONTES NETTO, D.; FAGNANI, R.; TAMANINI, R.; BATTAGLINI, A. P. P.; MONTEIRO, A. A.; ANGELA, H. L.; BELOTI, V.; SASSAHARA, M.; TAJIRI, A. N.; ROMÃO, G. O.; FUJIKAWA, A. M.; ARRUDA, C.; RODRIGUES, M. Análise qualitativa e caracterização de resíduos de organoclorados, organofosforados e carbamatos em leite cru e rastreamento da contaminação nas propriedades leiteiras no Estado do Paraná. In: CONGRESSO NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA, 2., 2007, Fortaleza. *Anais...* Fortaleza, 2007. CD-ROM.
- CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*. 3th ed. New York: John Wiley and Sons, 2002. p. 39-90.
- ECOBICHON, D. J. Toxic effects of pesticides. In: AMDUR, M. O.; DOULL, J.; KLAASSEN, C. D. *Casarett and doll's toxicology: the basic science of poisons*. 4th ed. New York: Mc Graw Hill; 1996. p. 565-622.
- FIGUEIROA, J. G. *O sinal verde para a reestruturação da agroindústria do leite no agreste*. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/artigos/artigos.php?id=240>>. Acesso em: 18 fev. 2006.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. *Sistema IBGE de recuperação de automática: SIDRA*. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 8 ago. 2008.
- LAMAITA, H. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO, L. S.; SANTOS, D. A.; PENNA, C. F. A. M.; SOUZA, M. R.. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 57, n. 5, p. 702-709, Oct. 2005.
- LANCETTE, G. A.; TATINI, S. R. *Staphylococcus aureus*. In: VANDRZANT, C. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3th ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. inial e final.
- MORAES, C. R.; FUERTEFRIA, A. M.; ZAFFARI, C. B.; CONTE, M.; ROCHA, J. P. A. V.; SPANAMBERG, A.; VALENTE, P.; CORÇÃO, G.; COSTA, M. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 33, n. 3, p. 259-265, 2005.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PONTES NETTO, D.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 211-215, jul./set. 2004.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela instrução normativa 51. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, n. 1, p. 191-195, jan./mar. 2005.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V.; FRANCO, B. D. G. M. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 2, p. 391-393, abr./jun. 2007a.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; NETTO, D. P.; FRANCO, B. D. G. M. Organofosforados e carbamatos no leite produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e ação sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 1, p. 201-204, jan./mar. 2007b.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BARROS, M. A. F.; ORTOLANI, M. B. T.; BELOTI, V.; FRANCO, B. D. G. M. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Raw Milk Produced in Brazil: Occurrence and Interference of Indigenous Microbiota in their Isolation and Development. *Zoonoses and Public Health*, Berlin, v. 55, n. 6, p. 299-305, Ago. 2008.
- OLIVEIRA, J. S.; PARMELLE, C. E. Rapid enumeration of psychrotrophic bacteria in raw and pasteurized milk. *Journal of Milk and Food Technology*, Local, v. 39, n. 4 p. 269-276, 1976.
- PADILHA, M. R. F.; FERNANDES, Z. F. F.; LEAL, T. C. A. L.; LEAL, N. C.; ALMEIDA, A. M. P. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Rio de Janeiro, v. 34, n. 2, p. 161-171, mar./abr. 2001.

- PARK, C. E.; AKTAR, M.; RAYMAN, K. Nonespecific reactions of a commercial enzyme-linked immunoabsorbent assay kit (Tecra) for detection of staphylococcal enterotoxins in foods. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 58, n. 8, p. 2509-2512, 1992.
- ROSA, L. D.; QUEIROZ, M. I. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios do APPCC. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 2, p. 422-430, abr./jun. 2007.
- SANTANA, E. W.; BELOTI, V.; OLIVEIRA, C. R. M.; MORAES, L. B.; TAMANINI, R.; SILVA, W. P. Estafilococos: morfologia das colônias, produção de coagulase e enterotoxina a, em amostras Isoladas de leite cru refrigerado. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 27, n. 4, p. 639-646, out./dez. 2006.
- SANTOS, M. V. *Diagnóstico da qualidade microbiológica do leite em fazendas leiteiras*. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/?actA=7&scacaoID=180noticiaID=34084>>. Acesso em: 27 jun. 2007.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. *Estratégias para controle da mastite e melhoria da qualidade do leite*. São Paulo: Manole, 2007.
- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Schaumburg, v. 30, n. 5, p. 199-207, mar. 1957.
- SECRETARIA DE PRODUÇÃO RURAL E REFORMA AGRÁRIA. *Programa leite de Pernambuco*. Disponível em: <http://www.producaorural.pe.gov.br/leite/o_programa.htm>. Acesso em: 7 nov. 2006.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 1997.
- WONG, A. C. L.; BERGDOLL, M. S. *Staphylococcal food poisoning*. 2th ed. London: Elsevier, 2002.
- ZOCHE, F.; BESSOT, L. S.; VARCELLOS, V.C.; PARANHOS, J. K.; ROSA, S. T. M.; RAYMUNDO, N. K. Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 59-67, 2002.

