

AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS PSICROTRÓFICAS E DE COLIFORMES TOTAIS NO LEITE PASTEURIZADO COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON/PR

Marcel Kague Schnoor, Marli Busanello, Liliane Borsatti, Mayara Andressa Sabedot, Magali Soares dos Santos Pozza (Orientadora/UNIOESTE), e-mail: magaspozza@hotmail.com.

Universidade Estadual do Oeste do Paraná/Centro de Ciências Agrárias
Marechal Cândido Rondon – PR.

Palavras-chave: Pasteurização, microrganismos no leite, legislação brasileira

Resumo

O leite é um dos alimentos mais completos da natureza e sua importância é baseada em seu elevado valor nutritivo e a alta digestibilidade. A pasteurização é necessária e tem a finalidade de diminuir ao máximo o número de microrganismos. A pesquisa teve como objetivo avaliar amostras de leite pasteurizado tipo B e tipo C (desnatado ou padronizado) do leite comercializado em Marechal Cândido Rondon, Estado do Paraná quanto ao seu aspecto microbiológico. Foram coletadas 15 amostras de leites pasteurizados. Nas análises de coliformes totais e microrganismos psicotróficos, 2 amostras (13,33%) encontraram-se acima dos padrões estabelecidos pela legislação. Concluiu-se que as marcas avaliadas de leite pasteurizado comercializadas apresentam-se próprias para o consumo.

Introdução

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas – RIISPOA, artigo 475 (BRASIL, 1997).

O leite é considerado um dos alimentos mais completo para consumo humano, por apresentar alto teor de proteínas e sais minerais (BORGES *et al.*, 1989). Porém, devido essa riqueza nutritiva de proteínas, sais minerais, gorduras, carboidratos, vitaminas e água, é também um excelente meio de cultura para desenvolvimento de microrganismos diversos (FRAZIER, 1993), podendo ainda ser contaminado durante o seu manuseio, transporte, processamento e armazenamento (PELCZAR, 1981).

Cordeiro *et al* (2002) cita que os microrganismos presentes no leite podem provocar alterações como degradação de gorduras, proteínas e carboidratos, o que torna inaceitável para o consumo.

O Brasil possui o maior rebanho bovino do mundo, totalizando 207,2 milhões de animais. Minas Gerais é o principal produtor nacional de leite de vaca, com 28,1%, e o Paraná encontra-se na terceira colocação com (10,3%) (IBGE, 2005). Possuindo 118.884 estabelecimentos com produção

de leite de vaca, o que totaliza aproximadamente 2.048.486 mil litros de leite produzidos anualmente (IBGE, 2006).

A região oeste do Paraná lidera a produção de leite dentro do estado, com uma produção de 745.715 mil litros e uma produtividade de 2.502 litros/animal/ano (EMBRAPA, 2005), representando 36,40% da produção estadual.

Dentro da microrregião de Toledo, o município de Marechal Cândido Rondon, apresenta uma produção de 97.630 mil litros de leite, com uma produtividade de 3.984 litros/vaca/ano (EMBRAPA, 2005), o que representa 4,76% da produção estadual, 13,09% da produção da região oeste do Paraná e 0,39% da produção nacional.

Os microrganismos são os principais responsáveis pela transmissão de doenças a partir do leite e seus derivados, e pela deterioração da qualidade destes alimentos (GOMES e GALLO, 1995). De acordo com Zadow (1989), esses microrganismos contaminantes podem causar alterações físico-químicas e sensoriais, além de problemas econômicos e de saúde pública, limitando a durabilidade do leite e seus derivados.

Segundo Silveira (1997), um leite de baixa qualidade microbiológica não se conserva por longos períodos, mesmo sob refrigeração, devido a sua contaminação principalmente por bactérias psicotróficas formadoras ou não de esporos, que apesar do seu crescimento lento, produzem grandes quantidades de enzimas, principalmente lipases e proteases que iram causar alterações no produto rapidamente.

A pasteurização é um tratamento térmico obrigatório em todo leite produzido no Brasil, a sua não utilização, faz com que o produto seja classificado como clandestino. Esse tratamento tem como objetivo principal a destruição de microrganismos patogênicos associados ao alimento em questão. Um objetivo secundário é aumentar a vida de prateleira do alimento, reduzindo as taxas de alterações microbiológicas e enzimáticas. A pasteurização é, muitas vezes, combinada com outros métodos de conservação e muitos produtos pasteurizados são estocados sob refrigeração (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

A pasteurização é dividida em lenta, a temperatura utilizada é de 65°C durante 30 minutos. Na pasteurização rápida utiliza-se temperaturas de 75°C durante 15 a 20 segundos, na literatura frequentemente encontramos este tipo de pasteurização com a denominação HTST (High Temperature and Short Time), alta temperatura e curto tempo. É utilizada para leite tipo A, B e C. Outro tipo de processo é a pasteurização muito rápida, na qual as temperaturas utilizadas vão de 130°C a 150°C, durante três a cinco segundos, este tipo é mais conhecido como UHT (Ultra High Temperature) ou longa vida.

O leite pasteurizado é mantido em baixas temperaturas para sua conservação. Embora o resfriamento possa exercer um importante papel na melhoria da qualidade do leite, pode haver comprometimento da qualidade do produto devido à proliferação de microrganismos psicotróficos (SOUZA et al 1999). Os microrganismos psicotróficos são um grupo importante no leite, sob o ponto de vista deteriorativo, principalmente porque produzem

enzimas que agem sobre os constituintes do leite causando alterações físico-químicas e organolépticas. São considerados como aqueles que são capazes de crescer em temperaturas igual ou inferior a 7°C, independente da sua temperatura ótima de crescimento (SHAH, 1994).

Com a implantação e difusão dos sistemas de refrigeração do leite na propriedade rural, esse grupo de microrganismos tornou-se uma das principais populações da microbiota do leite (CHAMPAGNE et al, 1994), respondendo por não menos que 10% da população microbiana total do leite e rapidamente predominando com o resfriamento (SHAH, 1994). A população de microrganismos psicotróficos pode representar de 70% a 75% de toda microbiota do leite, dependendo do grau de higiene do processo (DE SANTANA, 2001).

Segundo Adams (1975), bactérias psicotróficas na quantidade de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL podem produzir enzimas termoestáveis responsáveis por cheiro e sabor desagradáveis e coagulação do produto, encurtando sua vida útil.

Enzimas termorresistentes originadas de microrganismos psicotróficos são responsáveis pelo desenvolvimento de “off flavor” de leite pasteurizado e pela eficiência de determinados processos de fabricação, como a perda de rendimento (2% a 16%) e aparecimento de defeitos na produção de queijos além de serem capaz de provocar a gelatinização do leite UHT, e amargor em ambos produtos (CUNHA e BRANDÃO, 2000).

Os principais grupos de microrganismos encontrados em leite cru são bactérias Gram-negativas, com grande incidência de bactérias do gênero *Pseudomonas*, principalmente *Pseudomonas fluorescens* (SORHAUH e STEPANIAK, 1997), além disso, são as mais comuns bactérias degradativas que contaminam o leite resfriado depois da pasteurização. As espécies Gram-positivas constituem minoria, mas podem estar presentes em leite e derivados. Outros gêneros *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* têm sido isolados do leite, com ênfase para os gêneros *Bacillus* e *Arthrobacter* (CHAMPAGNE, 1994).

As bactérias do gênero *Bacillus* são de ocorrência comum, sendo encontradas no solo, na água, em matérias-primas e alimentos processados. Suas células vegetativas são destruídas na pasteurização, entretanto, não há a eliminação de seus esporos, podendo ativar sua germinação (ANDERSSON, 1995).

Grosskopf e Harper (1969) descreveram inicialmente a presença de bactérias esporogênicas psicotróficas do gênero *Bacillus* em leite cru e pasteurizado. Dentre as várias espécies de bactérias desse gênero, a *Bacillus cereus*, isolada em leite cru, pasteurizado e UHT por vários autores (GIFFEL et al, 1996; GIFFEL et al, 1997; LARSEN, 1997; NOTERMANS, 1997) é a mais importante, pois além de reduzir a vida de prateleira do leite pasteurizado em especial, pode produzir toxinas.

Temperaturas de estocagem do leite pasteurizado acima de 8°C podem propiciar o crescimento de *B. cereus* provocando amargor no produto pela ação de uma lecitinase (lipase extracelular) que atua na nata.

Os coliformes totais são aqueles que pertencem à família *Enterobacteriaceae* representados principalmente pelos gêneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter* e *Enterobacter* e que fermentam a lactose, produzindo ácido e gás quando incubados a 35°C durante 24 a 48 horas (SILVA et al, 1997).

Os coliformes são anaeróbicos facultativos e apresentam temperatura ideal de crescimento entre 30°C e 37°C. São proteolíticos e causam odores indesejáveis no leite. Seu crescimento é bloqueado em pH (potencial hidrogeniônico) inferior a 6,0. Os coliformes são destruídos pela pasteurização rápida (HTST). Eles são utilizados como microrganismos teste no monitoramento da qualidade microbiológica de processos em laticínios. Se coliformes são detectados no leite e na canalização após o pasteurizador, isso indica um sistema de limpeza desinfecção deficiente.

A presença de coliformes totais indicam contaminação pós processamento ou pasteurização inadequada, já que este grupo não é termodurico, e, portanto, sensível às temperaturas de pasteurização (ROBINSON, 1987).

Objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade microbiológica com relação à bactérias psicotróficas e coliformes totais do leite comercializado no Município de Marechal Cândido Rondon, comparando os resultados obtidos com os padrões da legislação nacional vigente.

Materiais e Métodos

As amostras de leite foram adquiridas em estabelecimentos comerciais do município de Marechal Cândido Rondon - PR no período de Dezembro de 2007 à Março de 2008. Foram analisadas 15 amostras no total, sendo 3 amostras do tipo B (marca X); 6 amostras do tipo C Padronizado (3 amostras da marca Y e 3 amostras da marca Z); e 6 amostras do tipo C Desnatado (3 amostras da marca T e 3 amostras da marca V). Foram feitas 3 repetições de análises.

Em cada análise foram coletadas cinco amostras de diferentes marcas comerciais de leite pasteurizado (1 amostra do tipo B, duas amostras do tipo C Padronizado e 2 amostras do tipo C Desnatado) comercializados no município, sendo transportadas em caixa isopor contendo frascos de gel congelados para manter o ambiente interno da caixa resfriado.

As amostras foram transportadas até o Laboratório de Microbiologia e Bioquímica da UNIOESTE, onde foi feita a desinfecção externa das embalagens com a utilização de álcool etílico 70%, agitação da embalagem para homogeneização dos sólidos e microrganismos do leite e preparação das diluições para análise.

Na primeira análise, as amostras foram adquiridos no período da manhã, próximo às 9:30h, sendo observada a temperatura de 10°C na gôndola expositora. Na segunda e terceira análise, as amostras foram adquiridas a tarde às 14:00h e 15:00 horas, respectivamente, apresentando temperatura dentro do limite (10°C).

Todas as amostras se encontravam dentro do prazo de validade, variando entre elas de um a dois dias para a data de vencimento.

Para todas as amostras foram feitas análises microbiológicas para contagem total de bactérias psicrótróficas (UFC/mL) e coliformes totais (NMP/mL).

Foi utilizado 1 mL de cada amostra de leite, que foi colocado em tubo de ensaio esterilizado contendo 9 mL de água destilada esterilizada, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . A partir dessa diluição, foram feitas diluições em série até a obtenção da diluição 10^{-4} .

As diluições 10^0 ; 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} foram semeadas em PCA (Agar Padrão de Contagem), utilizado para contagem de microrganismos psicrótróficos, com incubação de 7°C durante 10 dias em incubadora do tipo B.O.D. Com o auxílio de um contador de colônias, foi feita a contagem do número de colônias e multiplicada a média aritmética das duplicatas pelos respectivos fatores de diluição. Os resultados foram expressos em UFC/mL de leite (Unidade Formadora de Colônia por mililitro de leite).

De acordo com a metodologia, foram transferidas alíquotas de 1 mL das diluições 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} para 10 mL de Caldo Lactosado. Essas amostras foram incubadas em estufa à 35°C por 24/48 horas em 3 séries de 3 tubos (contendo tubo Durham). As amostras positivas para formação de gás em Caldo Lactosado tiveram alíquotas transferida para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante 2%, os quais foram incubados à 35°C por 24/48 horas para o teste confirmativo de coliformes totais. Os resultados foram expressos em NMP/mL de leite (Número Mais Provável por mililitro de leite).

Resultados e Discussão

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de leite avaliadas estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 – Análises Microbiológicas dos leites das Marcas X, Y, Z, T, V

Amostra (Marca)	Análise	Contagem Psicrótrófico UFC/mL	Coliformes Totais NMP/mL
X	1	8,35 x 10 ²	3
X	2	2,50 x 10 ¹	0
X	3	2,78 x 10 ⁴	4
Y	1	1,15 x 10 ²	2
Y	2	< 10	0
Y	3	3,0 x 10 ¹	0
Z	1	9,85 x 10 ²	3
Z	2	2,35 x 10 ⁴	0
Z	3	3,0 x 10 ¹	0
T	1	2,0 x 10 ¹	7
T	2	< 10	0
T	3	< 10	0
V	1	4,1 x 10 ³	6
V	2	3,0 x 10 ¹	0

V	3	$6,05 \times 10^2$	0
---	---	--------------------	---

De acordo com os limites estabelecidos pelo MAPA, através da IN 51, 2002, das 15 amostras analisadas, 13 (86,66%) foram aprovadas, apresentando coliformes totais inferior a 4 NMP/mL.

Para microrganismos psicotróficos, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – R.I.I.S.P.O.A. estabelece o limite de $4,0 \times 10^3$ UFC/mL e $1,5 \times 10^4$ UFC/mL para o leite pasteurizado tipo B e C, respectivamente.

De acordo com esses limites, as amostras X3 ($2,78 \times 10^4$) e Z2 ($2,35 \times 10^4$) encontraram-se acima do limite padrão, representando 13,33% do total de amostras analisadas.

Esses valores podem ser efeitos do horário no qual as amostras foram adquiridas, pois a amostra X3 foi adquirida às 15:00 horas, e a amostra Z2 foi adquirida às 14:00 horas.

A diferença de horário ao adquirir as amostras pode ter influenciado nos diferentes resultados do leite pasteurizado tipo B (marca X), sendo válido também para os resultados obtidos para o leite tipo C desnatado da marca T.

As amostras de leite da marca Y (tipo C padronizado), podem ter sofrido influência do manejo deficiente na obtenção do leite e processamento, pois os microrganismos são eliminados no processamento industrial, mas suas enzimas continuam atuando sobre os componentes do leite (lipídios e proteínas).

O resultado encontrado neste trabalho difere do encontrado por Cordeiro et al. (2002), que avaliando 43 amostras de leite pasteurizado tipo C proveniente de micro-usinas de Campos dos Goytacazes – RJ constataram que todas as contagens (100%) para bactérias psicófilas estavam dentro dos padrões oficiais. Resultado semelhante ao encontrado por Maricato et al. (2002), que avaliando 50 amostras de leite tipo C verificaram contagens de psicotróficos inferior a $3,0 \times 10^2$ UFC/mL em todas as amostras.

Zocche et al. (2002) pesquisando 40 amostras de leite B e C coletadas em Palotina (PR) verificaram que as contagens de psicotróficos, no geral, foram baixas, sendo que não há padrão na legislação para este grupo de microrganismo. A exceção concentrou-se em uma análise cuja contagem foi de $2,5 \times 10^7$ UFC/mL.

Segundo Adams (1975), bactérias psicotróficas na quantidade de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL podem produzir enzimas termoestáveis responsáveis por cheiro e sabor desagradáveis e coagulação do produto, encurtando sua vida útil.

Ferreira et al (2006) analisando 30 amostras de uma única marca de leite pasteurizado tipo C comercializado em Jaboticabal – SP, encontraram valores que variaram de $1,0 \times 10^2$ a $5,9 \times 10^6$ para microrganismos psicotróficos e para coliformes totais e fecais, 16 amostras (53,0%) e 18 amostras (60,0%), encontraram - se em desacordo com a legislação, respectivamente.

Em relação a coliformes totais, apenas 2 amostras (13,33%), encontraram-se acima do valor permitido (4 NMP/mL), resultado muito semelhante ao encontrado por Carvalho et al (2004) em Patos – PB, onde 10,0% das amostras estavam em desacordo com a legislação.

Para todas as amostras da primeira análise (X1, Y1, Z1, T1, V1), encontrou-se a presença de coliformes totais, ainda que dentro do padrão do MAPA, exceto T1 e V1, que estavam acima do permitido com 7 e 6 NMP/mL, respectivamente, podendo ser resultado de influência do ambiente rural, higienização de equipamentos na indústria, no laboratório de análises e no manejo dos equipamentos dentro do laboratório.

A amostra X3 apresentou 4 NMP/mL, podendo ser resultado da higienização deficiente na indústria, no propriedade rural, pois as outras amostras analisadas no mesmo dia (Y3; Z3; T3; V3) não apresentaram contagem para coliformes totais.

Outro resultado semelhante foi descrito por Timm et al (2001) ao analisar 74 amostras de tipo pasteurizado tipo C na região sul do Rio Grande do Sul verificaram que 16,22% e 2,70% das amostras estavam fora dos padrões para coliformes totais e fecais, respectivamente.

Tamanini et al (2007) avaliando 80 amostras de leite pasteurizado tipo C na região norte do Paraná, verificaram que apenas 3,7% das amostras estavam acima dos padrões para microrganismos mesófilos, porém 30,0% das amostras apresentavam altos índices de coliformes totais, indicando insatisfatoriedade na qualidade microbiológica do leite. Freitas *et al.* (2002) encontraram resultados semelhantes ao analisar 51 amostras de leite pasteurizado tipo C em Belém – PA, onde 32,3% das amostras estavam acima do limite estabelecido pela legislação. Sena et al (2001) analisaram 61 amostras de leite tipo C comercializadas em Recife e constataram que 36,1% das amostras apresentaram valores acima dos padrões legais estabelecidos para NMP de coliformes totais, muito semelhante aos descritos anteriormente.

Leite et al (2002) avaliando 20 amostras de leite pasteurizado tipo C comercializado em Salvador – BA, determinaram que 55,0% (11 amostras) estavam em desacordo com a legislação para coliformes totais, e 35,0% (7 amostras) se encontravam em desacordo para coliformes fecais, indicando um risco para a saúde da população.

Em análise de 30 amostras de leite pasteurizado comercializado em Itapetinga – BA, Maciel et al (2003) determinaram que 70,0% das amostras estavam em desacordo para coliformes totais, e ainda mais preocupante, 90,0% das amostras se encontraram acima dos padrões legais para coliformes fecais. Resultado semelhante ao encontrado por Vieira e Carvalho (2003) em análise de uma única amostra de leite pasteurizado tipo C comercializado em Patos – PB, onde constataram que 42 amostras (70,0%) se encontravam fora do padrão.

Bastos et al (2006) analisando o leite pasteurizado comercializado no município de Muriaé – MG e região determinaram a presença de microrganismos do gênero *Klebsiella* em 100% das amostras, este microrganismo, pertence ao grupo dos coliformes totais, comumente

presente nas fezes animais e natureza, indicando precárias condições higiênico-sanitárias e uma grande deficiência no controle de qualidade microbiológica.

Freitas e Glória (1993), Moreno et al (1999) e Hoffmann et al (1998), encontraram, respectivamente, 83%, 90,9% e 100% das amostras fora dos padrões, com contagens de coliformes totais acima dos limites toleráveis. A presença de quantidade elevada de coliformes totais no leite corretamente pasteurizado é claro sinal de recontaminação.

Essa recontaminação pode ser atribuída à deficiência na limpeza e sanificação de equipamento ou à qualidade da água utilizada nos procedimentos de limpeza e enxágüe. As falhas nos procedimentos de higienização permitem que os resíduos aderidos aos equipamentos e superfícies se transformem em potencial fonte de contaminação (ZOTTOLA, 1994). Esses resíduos constituem fontes de energia para que microrganismos possam se multiplicar. A evolução deste processo forma uma massa composta por resíduos, microrganismos e seus produtos extracelulares que recebe o nome de biofilme (SILVA JÚNIOR, 2002). No biofilme os microrganismos se tornam mais resistentes à ação de agentes químicos e físicos usados nos procedimentos de higienização, tornando difícil sua eliminação (PARIZI, 1998).

Bueno et al. (2007) avaliando a qualidade do leite pasteurizado de 35 amostras provenientes de três indústrias da região Sul do Rio Grande do Sul verificaram que apenas duas (5,7%) apresentaram coliformes fecais acima do limite da legislação e em 1 amostra foi identificada a presença de *Salmonella spp*, sendo portanto, impróprias para o consumo, evidenciando falhas na pasteurização e/ou envase do produto.

Kozusny-Andreani e Mendes (2007) pesquisando bactérias patogênicas em 100 amostras provenientes de quatro diferentes marcas de leite tipo C observaram que 100% das amostras de leite da marca 1 apresentaram contaminação por *Escherichia coli* e as marcas 2 e 3 apresentaram 22% e 18% respectivamente de contaminação.

Conclusão

Para a maioria das amostras analisadas conclui-se que com relação à bactérias psicotróficas e coliformes totais o leite pasteurizado comercializado no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, no período avaliado, apresentou-se próprio para o consumo.

Referências

- Adams, D.M.; Barach, J.T.; Speck, M.L. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *Journal of Dairy Science*, Sanvov, v. 58, n. 6, p. 828- 834, 1975.
- Andersson, A.; Rönner, U.; Granum, P.E. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and

Clostridium perfringens? *International Journal of Food Microbiology*, v.28, n.2, p.145-155,1995.

Azeredo, H.M.C. *Fundamentos de estabilidade de alimentos*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 195 p.

Bastos, K.P.L.; Gomes, D.M.; Mendes, L.T.; Arêdes, E.M.; Povia, H.C.C. Análise Microbiológica de Leite Pasteurizado Comercializado no Município de Muriaé – MG e Região. *Revista Científica da Faminas - Muriaé* - v. 2, n. 1, sup. 1, p. 26, jan.-abr. 2006.

Brasil, Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – R.I.I.S.P.O.A.* Aprovado pelo decreto n 30691 de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto 1255 de 25 de junho de 1962. Alterado pelo Decreto 2244 de 04/06/1997. Brasília-DF. 1997.

Borges, M.F.; Brandão, S.C.C.; Pinheiro, A.J.R.; Efeito bactericida do peróxido de hidrogênio sobre Salmonella em leite destinado a fabricação de queijos. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 20, n. 2, p.145-149, 1989.

Bueno, F.M.; Jantzen, M.M.; Lima, A. S.; Pimenta, K., Silva, W. P. Leite pasteurizado produzido e comercializado na região sul do Rio Grande do Sul: avaliação da qualidade microbiológica. In: Congresso latinoamericano de Higienistas de Alimentos, 2, *Anais*. São Paulo, vol. 21, nº150, p. 220. 2007.

Camargo, A.C. *Conservação pelo Calor – Pasteurização*. Disponível em<http://www.cena.usp.br/irradiacao/conservacao_pelo_calor.htm>. Acesso em 29 ago. 07.

Carvalho, M. G. X.; Medeiros, N. G. E. A.; Alves, A. R. S.; Santos, M., G. O.; Lima, S. C. P.; Azevedo, S. S. Análise microbiológica do leite in natura e pasteurizado tipo “C” proveniente de uma mine-usina da cidade de Patos, Paraíba. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.18, n.123, p.62-66, 2004.

Champagne, C.P.; Laing, R.R.; Roy, D.; Mafre, A.; Griffiths, M.W. Psychrotrophs in dairy products: heir effects and their control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. V.34, n.1, p. 1-30, 1994.

Cordeiro, C.A.M.; Carlos, L.A.; Martins, M.L.L. Qualidade microbiológica de leite pasteurizado tipo C, proveniente de micro-usinas de Campos dos Goytacazes, RJ. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 16, n. 92/93, p. 41-44, jan./fev. 2002.

Embrapa – *Microrregião Toledo – Dados do Município – Ano 2005*. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/>>. Acesso em 24 ago. 07.

Embrapa – *Paraná – Dados das Mesorregiões – Ano 2005*. Disponível em <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/>>. Acesso em 24 ago. 07.

Ferreira, L.M.; Souza, V.; Melo, P.C.; Pinto, F.R.; Filho, A.N. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Leite Pasteurizado Tipo C Integral Comercializado na Cidade de Jaboticabal – SP. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 21, n. 150, p. 134. 2006.

- Fonseca, L.F.L.; Santos, M.V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. 1.ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
- Frazier, W. C. *Microbiologia de los alimentos*. Acribia, 4ª ed. Zaragoza, España, 681p., 1993.
- Freitas, M.T.; Glória, M.B.A. Qualidade higiênico-sanitária do leite pasteurizado tipo C comercializado em Belo Horizonte – MG – no período de 1987 a 1989. 1993. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*, 48(287):82-87.
- Giffel, M.C.T.; Beumer, R.R.; Bonestroo, M.H., Roumbouts, F.M. Incidence and characterization of *Bacillus cereus* in two dairy processing plants. *Neth. Milk Dairy Journal.*, v.50, p.479-492, 1996.
- Giffel, M.C.T.; Beumer, R.R.; Granum, P.E. Roumbouts, F.M. Isolation and characterization of *Bacillus cereus* from pasteurized milk in household refrigerators in the Netherlands. *International Journal of Food Microbiology.*, v.34, p.307-318, 1997.
- Gomes, H. A.; Gallo, C. R. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e produção de enterotoxinas por linhagens isoladas a partir de leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “Minas frescal” comercializados em Piracicaba-SP. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, São Paulo, v.15, n.2, p.158-161, jul-dez., 1995.
- Grosskopf, J.C.; Harper, W.J. Role of psychrotrophs sporeformers in long life milk. *Journal of Dairy Science*, 52 (supplement 1) p.897, 1969.
- Hoffmann, F.L., Garcia-Cruz, C.H., Vinturim, T.M., Fazio, M.L.S., Carmello, M.T. Qualidade Microbiológica do Leite consumido em São José de Rio Preto-SP. 1998. *Indústria de Laticínios*, 14: 70-73.
- IBGE – *Produção da Pecuária Municipal 2005*. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=759>. Acesso em 18 set. 08.
- IBGE – *Censo Agropecuário 2006 – Resultados Preliminares*. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pr&tema=censoagro>>. Acesso em 18 set. 08.
- Kozusny-Andreani, D.I.; Mendes, A. Pesquisa de bacterias patogenicas em leite pasteurizado tipo C. In: Congresso latinoamericano de Higienistas de Alimentos, 2, *Anais*. São Paulo, vol. 21, nº150, p. 237-238. 2007.
- Larsen, H.D.; Jorgensen, K. The occurrence of *Bacillus cereus* in Danish pasteurized milk. *International Journal of Food Microbiology*. V.34, p.179-186, 1997.
- Leite, C.C.; Guimarães, A.G.; Assis, P. N.; Silva, M.D.; Andrade, C. S.O. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador – Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. V. 3. Ano 1:21-25, 2002.
- Maciel, J.F.; Bonomo, P.; Damasceno, M.M.; Sampaio, K.A.; Santos, L.S.; Carvalho, E.A.; Bonomp, R.C.F. Qualidade Microbiológica de Leite Pasteurizado Comercializado em Itapetinga – BA. In: Congresso Nacional de Laticínios, 20, 2003. *Anais*. Juiz de Fora: Congresso Nacional de Laticínios. p. 131-134, 2003.

Maricato, E. Cerqueira, M.M.O.P, Silva, A.D., Souza, M.R., Penna, C.F.A.M., Leite, O.M. Isolamento e contagem da microbiota psicotrófica, mesofílica e proteolítica deteriorante do leite cru granelizado e pasteurizado na região de Belo Horizonte – MG. In: Semana de Iniciação Científica, 11. *Anais*. Belo Horizonte: Semana de Iniciação Científica. UFMG, 2002.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa Nº 51 de 18/09/2002*. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002. Sec. 1, p. 13.

Moreno, I., Vialta, A., Lerayer, A..L.S., Salva, T.J.G., Van Dender, A.G. F., Wolf, B., Machado, R.C. Qualidade Microbiológica de Leites Pasteurizados produzidos no Estado de São Paulo. 1999. *Indústria de Laticínios*, 20: 56-61.

Notermans, S.; Dufrenne, J.; Teunis, P.; Beumer, R.; Giffel, M.T.; WEEM, P.P. A risk assessment study of *Bacillus cereus* present in pasteurized milk. *International Journal of Food Microbiology*, v.14, p.143-151, 1997.

Parizzi, S. Q. F., Adesão bacteriana em superfície de serviços de alimentação hospitalar avaliada pela microscopia de epifluorescência. 1998. *Dissertação* (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Pelczar, M.J.; Reid, R.; Chan, E.C.S. *Microbiologia*. Vol. 2. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1072p. 1981.

Potter, N.N.; Hotchikiss, J.H. *Food Science*. 5. ed. New York: Chapman & Hall, 1995. 608 p.

Révillion, J.P. *Microrganismos de leite e seus derivados – Coliformes*. Disponível em: <www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/micro/micro_mos_coliformes.htm>. Acesso em 23 ago. 07.

Robinson, R.K. *Microbiologia Lactologica*. Zaragoza, Acríbia. 1987. v.1, 230p.

Santana, E.H.V. *et al.*. Microrganismos psicotróficos em leite. *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, n.88, p.27-33, 2001.

Sena, M.J.; Mendes, E.S.; Almeida, C.C.; Veja, H.J.H.; Cruz, M..S. Qualidade físico-química do leite pasteurizado tipo “C” comercializado em Recife. *Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes*, v. 56, nº321, p. 241-248. 2001.

Shah, N.P. Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft*, v.49, n.8, p.432-437, 1994.

Silva júnior., E. A. B. Biofiles. In: *Manual de controle higiênico sanitário em alimentos*. 5. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002. p.170.

Silveira, I. A. *Estudo microbiológico do leite tipo B cru conservado sob refrigeração*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997 84p. *Dissertação* (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, 1997.

Sorhaug, T. e Stepaniak, L. Psychotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trends in Food Science and Technology*, n.8, p.35-41, 1997.

Souza, M.R.; Cerqueira, M.M.O.P.; Sena, M.J.; Leite, M.O.; Penna, C.F.A.M. Avaliação da qualidade do leite resfriado, estocado em propriedades rurais por 48 horas e recebidos por uma indústria de laticínio. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.54, n309, p. 238-241, 1999.

Tamanini, R.; Silva, L.C.C.; Monteiro, A.A.; Magnani, D.F.; Barros, M.A.F.; Beloti, V. *Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo "C" produzido na região norte do Paraná*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007

TIMM, C.D.; Gonzalez, H.L.; Bermudes, R.F.; Oliveira, D.S.; Büchle, J.; Alexis, M.A.; Saraiva, M.N.M.; Coelho, F.J.O.; Knorr, R. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado consumido na região sul do Rio Grande do Sul. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, 2001, Piracicaba. *Anais*. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia. p. 1542-1543, 2001.

Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3.ed. Washington: American Public Health Association. 1992. 1219p.

Vieira, T.R.L.; Carvalho, M.G.X. Características Microbiológicas, Físico-Químicas e Condições Higiênico-Sanitárias do Leite Pasteurizado Tipo C Comercializado na Cidade de Patos – PB. In: Congresso Nacional de Laticínios, 20, 2003. *Anais*. Juiz de Fora: Congresso Nacional de Laticínios. p. 201-203, 2003.

Zadow, J.G. Extending the shelf life of dairy products. *Food Austria*, v.41, n.9, p. 935-937, 1989.

Zocche, F.; Bersot, L.S.; Barcellos, 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* v.7, n.2, p.59-67, 2002.

Zottola, E. A., Microbial attachment and biofilm formation: a new problem for the food industry? *Food Technology*, Chicago, v.48, n.7, p.107-114, 1994.