

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA**  
***Campus* ROLIM DE MOURA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

DAYANE DA SILVA ZANINI

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU  
COMERCIALIZADO INFORMALMENTE EM FEIRAS LIVRES NO MUNICÍPIO DE  
ROLIM DE MOURA**

ROLIM DE MOURA - RO

2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA**  
***Campus* ROLIM DE MOURA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

DAYANE DA SILVA ZANINI

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU  
COMERCIALIZADO INFORMALMENTE EM FEIRAS LIVRES NO MUNICÍPIO DE  
ROLIM DE MOURA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito parcial para a  
obtenção de graduação no curso de  
Bacharel em Medicina Veterinária da  
Universidade Federal de Rondônia -  
UNIR.

Orientador: Professor Dr. Igor Mansur  
Muniz.

ROLIM DE MOURA - RO

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Fundação Universidade Federal de Rondônia  
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

---

Z31a Zanini, Dayane da Silva.

Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Rolim de Moura / Dayane da Silva Zanini. -- Rolim de Moura, RO, 2018.

50 f. : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Igor Mansur Muniz

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) -  
Fundação Universidade Federal de Rondônia

1.Leite. 2.Feiras livres. 3.Coliformes. 4.Escherichia coli. I. Muniz, Igor Mansur. II. Título.

CDU 637.12

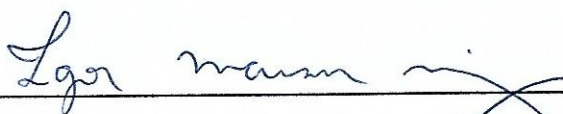
**DAYANE DA SILVA ZANINI**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU  
COMERCIALIZADO INFORMALMENTE EM FEIRAS LIVRES NO MUNICÍPIO DE  
ROLIM DE MOURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a  
obtenção de graduação no curso de Bacharel em Medicina Veterinária da  
Universidade Federal de Rondônia - UNIR

Rolim de Moura, 22 de Junho de 2018

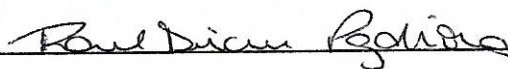
**BANCA EXAMINADORA**



Professor Dr. Igor Mansur Muniz  
Universidade Federal de Rondônia



Professora Dra. Mayra Araguaia Figueiredo  
Universidade Federal de Rondônia



Professor Dr. Raul Dirceu Pazdiora  
Universidade Federal de Rondônia

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente a Deus, pela Sua bondade e graça em minha vida. Por me dar a oportunidade de viver e a cada dia aprender algo novo. Por me manter forte e sempre seguindo em frente.

Agradeço aos meus pais, Walter Zanini e Maria das Graças da Silva Zanini, pelo apoio e pela educação que sempre me deram. Obrigada por tudo. Amo vocês.

Agradeço ao meu professor orientador Igor Mansur Muniz, por ter me ajudado e guiado, ter tido a paciência e atenção de me orientar no trabalho final.

Agradeço às amigas que a faculdade me deu e que vão estar no meu coração para sempre: Hortência Laporti, Jaqueline Pedroski, Jaqueline Carvalho, Suelen Gualtieri e Talita Mendonça. Obrigada meninas por todos os momentos compartilhados durante esses anos. Somos mesmo um Sexteto Fantástico.

Obrigada aos meninos João Junior, André Luiz e Ivair Santos, que mesmo conhecendo há pouco tempo, já guardo boas lembranças.

E como não poderia faltar, tenho que agradecer pelos anos de amizade, paciência, conselhos e todos os momentos que fazem parte da nossa história, Eduarda Naiany. Minha amiga-irmã. Muito obrigada por não desistir de mim. Mesmo longe sempre estaremos uma no coração da outra.

## RESUMO

O Brasil está em quinto lugar na produção mundial de leite, sendo um dos principais produtos na pecuária nacional. Todo o leite obtido deve ser destinado à laticínios, onde são submetidos à tratamento térmico, contudo, ainda hoje, existe uma grande porcentagem que é destinada ao comércio informal, onde são consumidos sem inspeção, o que pode proporcionar riscos à saúde pública, pois a composição do leite permite o desenvolvimento de microrganismos, tanto deterioradores, quanto os patogênicos. O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite comercializado informalmente em feiras livres na cidade de Rolim de Moura, com foco na pesquisa de coliformes. Foram adquiridas 20 amostras de leite cru comercializado em feiras do município, os quais foram transportados sob refrigeração até o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia, onde retirou-se 25 mL de cada amostra, que foram diluídas em Água Peptonada e posteriormente incubadas em Caldo Lactosado por 24 horas. Das amostras positivas foram transferidas alíquotas para Caldo Verde Brilhante e Caldo EC, para crescimento de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente. Tendo amostras positivas em EC, foi feita semeadura em placa com ágar EMB para crescimento de *Escherichia coli*. Os resultados revelaram que 60% das amostras foram positivas para coliformes totais e 40% para coliformes termotolerantes, sendo que 75% desses deram positivo para *E. coli*. Portanto conclui-se que muitos dos leites comercializados nas feiras do município tem contaminação por coliformes, sendo indicativo de contaminação em alguma das etapas entre a propriedade até a comercialização, devendo o consumidor estar atento ao adquirir esse produto, pois o mesmo pode veicular microrganismos que geram prejuízos à saúde.

**Palavras-chave:** Leite, Feiras livres, Coliformes, *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

Brazil ranks fifth in the world milk production, being one of the main products in national livestock production. All the milk obtained must be destined to the dairy where they be subjected to the heat treatment. However, there is still a large percentage that is destined for informal commerce, where they are consumed without inspection, which can provide risks to public health, since the composition of milk allows the development of microorganisms, both deteriorating and pathogenic. The objective of this work was to evaluate the microbiological quality of milk commercialized informally in open fairs in the city of Rolim de Moura, with focus on coliform research. Twenty samples of raw milk marketed at fairs of the municipality were purchased, which were transported under refrigeration to the Microbiology Laboratory of the Federal University of Rondônia, where 25 mL of each sample were removed and diluted in Buffered Peptone Water and incubated in Lactose Broth for 24 hours. From the positive samples, aliquots were transferred to Brilliant Green Bile Broth and EC Medium, for growth of total and thermotolerant coliforms, respectively. Having positive samples in EC Medium, plaque seeding with EMB Agar for *Escherichia coli* growth was done. The results showed that 60% of the samples were positive for total coliforms and 40% for thermotolerant coliforms, 75% of which were positive for *E. coli*. Therefore, it is concluded that many of the milks sold in the fairs of the municipality have contamination by coliforms, being indicative of contamination in some of the stages between the property until the commercialization, and the consumer must be attentive when acquiring these product, since the same can vehicular microorganisms that cause health damage.

**Keywords:** Milk, Open fairs, Coliforms, *Escherichia coli*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRÁFICO 1 - Número de amostras em relação aos valores da tabela de Número Mais Provável.....	36
FIGURA 1 - Tubos contendo Caldo Lactosado com amostras negativas para bactérias produtoras de gás.....	36
FIGURA 2 - Tubos contendo Caldo Lactosado com amostras positivas para bactérias produtoras de gás.....	37
FIGURA 3 - Tubos contendo caldo Verde Brilhante positivos para coliformes totais.....	37
FIGURA 4 - Tubo contendo caldo <i>Escherichia coli</i> (EC) sendo observado resultado positivo da amostra.....	38
FIGURA 5 - Placa com ágar EMB apresentando crescimento de <i>E. coli</i> .....	38



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Coliformes totais e termotolerantes de cada amostra analisada.....	35
---	----

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Principais componentes do leite bovino.....	17
QUADRO 2 - Concentração de minerais e vitaminas no leite (mg/100mL).....	20
QUADRO 3 – Requisitos microbiológicos do leite pasteurizado e leite cru refrigerado transportado a granel.....	31
QUADRO 4 – Padrão microbiológico do leite pasteurizado tipo A e pasteurizado....	32

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	12
2.1. Objetivo geral .....	12
2.2. Objetivos específicos .....	12
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
3.1. Perspectiva do leite no mundo .....	13
3.2. Perspectiva do leite no Brasil .....	14
3.3. O leite no estado de Rondônia .....	15
3.4. Composição do leite .....	16
3.4.1. Gordura .....	17
3.4.2. Proteínas .....	18
3.4.3. Lactose .....	19
3.4.4. Minerais e vitaminas .....	19
3.5. Microbiota do leite .....	20
3.6. Coliformes totais e termotolerantes .....	24
3.6.1. Coliformes totais .....	24
3.6.2. Coliformes termotolerantes .....	25
3.6.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	25
3.7. Leite não inspecionado comercializado informalmente .....	27
3.8. Legislação .....	30
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
4.1. Local do estudo .....	33
4.2. Obtenção das amostras .....	33
4.1. Processamento .....	33
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	43

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil (quinto maior produtor mundial em 2016) aumentou a um ritmo de 2,7% ao ano no período de 2012 a 2015, estimando-se haver alcançado 34,6 milhões de toneladas em 2016. A produção de leite sob inspeção, que representa aproximadamente 70,0% da produção total do país, recuou 2,8% em 2015 e 3,7% em 2016. Nos três primeiros trimestres de 2017 a produção de leite sob inspeção foi de mais de 17,6 bilhões de litros, de acordo com dados de 2017 da Conab.

Ainda que o país tenha uma grande produção, apenas parte dela é destinada à laticínios, onde o leite recebe o devido tratamento térmico para que seja comercializado. A venda do leite sem inspeção é denominado de comércio informal. De acordo com a Pesquisa Trimestral do Leite, feita pelo IBGE, houve um crescimento do mercado informal do leite em 2016, sendo o segundo ano consecutivo que isso ocorre. Em 2014, o mercado era de 29,5%, mas em 2016 esse número passou para 31,3%.

O comércio informal de produtos é uma realidade no país, abrange todos os tipos de produtos e pode ser denominado como o comércio no qual prevalece o mínimo de intervenção do governo, não cumprem as legislações fiscais e trabalhistas, sem contrato social registrado junto à seguridade social.

Quando se trata da comercialização informal de alimentos, deve-se atentar aos riscos à saúde pública que isso pode gerar. Sejam alimentos prontos ou produtos de origem animal, podem se tornar fontes de infecção das chamadas doenças transmitidas por alimentos (DTAs), que geram prejuízos à saúde de quem os consome, principalmente àqueles em grupos de riscos, como crianças, idosos e pessoas com imunossupressão.

Inúmeros agentes etiológicos estão envolvidos nas DTAs, podendo ser bactérias, vírus, fungos e parasitos (protozoários). Esses agentes podem ser transmitidos pela água, alimentos de origem vegetal, mas de grande importância, os alimentos de origem animal, pois possuem substratos essenciais para a sobrevivência desses microrganismos por longo período de tempo, além das

doenças denominadas zoonoses, que são transmitidas dos animais para os humanos, sendo uma das fontes de infecção o alimento advindo de um animal doente.

Um desses produtos é o leite e seus derivados, esse possui componentes, as proteínas, açúcares e gordura do leite, que favorecem o crescimento de patógenos. Dentre bactérias que contaminam o leite e que são agentes principais de doenças em humanos, estão bactérias do gênero *Mycobacterium*, *Brucella*, *Coxiella*, dentre outras que são zoonoses; também são transmissíveis, bactérias que pertencem a microbiota do trato gastrintestinal dos animais, mas que ao contaminarem algum alimento, levam ao aparecimento de doenças naqueles que consumiram o alimento contaminado. Essas bactérias são da família Enterobacteriaceae, como a *Escherichia coli* e a *Salmonella* spp.

Dado o potencial transmissor de DTAs que o leite possui, é essencial que este passe pela correta análise do Sistema de Inspeção que existem dentro dos laticínios, para garantir um produto, e seus derivados, de qualidade à quem irá adquirir.

O presente trabalho foi realizado com o intuito de analisar a qualidade microbiológica do leite comercializado informalmente em feiras livres, com a pesquisa de coliformes totais e termotolerantes, que são indicadores da contaminação do leite, além da observação do crescimento de *E. coli*, sendo esta uma bactéria de importância na saúde pública.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Rolim de Moura, Rondônia.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras adquiridas;
- Determinar se há a presença de *Escherichia coli* nas amostras obtidas.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Perspectiva do leite no mundo

É um fato bem conhecido que a indústria de laticínios contribui ativamente para a economia de várias comunidades, regiões e países. Observa-se que está emergindo uma demanda crescente em todo o mundo, a indústria se globalizando, aumentando assim a finalidade e a intensidade do comércio de laticínios (IDF, 2013).

A produção mundial de leite de vaca, em 2015, foi de 656 mil toneladas, e os dez países com maior volume produziram 374 mil toneladas, o que representa 57% do total, são eles os Estados Unidos, Índia, China, Brasil, Alemanha, Rússia, França, Nova Zelândia, Turquia e Reino Unido (ZOCCAL, 2017).

No período entre 2000 e 2015, a China foi o país que mais elevou sua produção, tendo um aumento de 335%, seguido pela Índia e Turquia, com 101% e 94% respectivamente (ZOCCAL, 2017).

A produção de 2016 da União Europeia, foi de 152 milhões de toneladas, tendo um aumento de 1,2% em relação à 2015. As estimativas para 2017, é que a produção alcance 152,5 milhões de toneladas. Quanto aos Estados Unidos a produção de 2016 aumentou 1,8% com previsão de 98,3 milhões de toneladas em 2017 (FAGUNDES, 2017).

Estima-se que o valor bruto da produção agrícola é de 3282 bilhões de dólares, enquanto o do leite cru produzido em todo o mundo equivale a 292 bilhões de dólares. Em escala global, o valor do leite representou 8,9% do valor de todos os produtos em 2010. Dependendo do ano, sua produção equivale a 8,5 a 10,5% da produção agrícola total, e em algumas partes do mundo esse valor é de 20% (IDF, 2013).

De acordo com estimativas da Organização das Nações Unidas pela Alimentação e Agricultura (FAO), até 2026 a produção de leite em países desenvolvidos aumentará em 10% e em países em desenvolvimento 34%. Até 2026 os cinco maiores produtores de leite serão União Europeia, Índia, Estados Unidos, China e Paquistão, sendo a Índia e Paquistão os responsáveis por alavancar a

produção da Ásia. O crescimento da União Europeia e dos Estados Unidos será menos expressivo, tendo a UE um aumento de 0,8% e os Estados Unidos 1,1% devido à rentabilidade animal (1% ao ano). A China permanecerá com os 5% da participação mundial, mas aumentará suas importações. América Latina e Caribe terão um aumento de 18%. Mesmo não sendo um dos maiores produtores, a Nova Zelândia terá destaque na exportação de leite em pó (OECD; FAO, 2017).

Estima-se que mais de 6 bilhões de pessoas no mundo consumam leite e produtos lácteos de várias espécies domesticadas, sendo a maior parte, pessoas em países em desenvolvimento. Esses países permanecem com um consumo médio menor do que os países desenvolvidos (25 kg per capita/ano e 300 kg per capita/ano respectivamente), mas o aumento do consumo é crescente, enquanto que nos países desenvolvidos o consumo se mantém estável (SEBRAE, 2015).

### **3.2. Perspectiva do leite no Brasil**

Em 2015, a produção de leite no Brasil foi de cerca de 34 bilhões de litros, colocando o país entre os cinco primeiros no ranking mundial, mas apesar da grande produção, o país ainda importa lácteos para abastecer o mercado interno. De janeiro a julho de 2016 foi importado 130,2 mil toneladas de produtos (ZOCCAL, 2016) e no primeiro semestre de 2017 foram 35,4 mil toneladas de leite em pó e outros leites importados, sendo os principais exportadores a Argentina, o Uruguai e o Chile (ZAFALON, 2017).

O Brasil tem cerca de 1,3 milhões de propriedades leiteiras, com um rebanho de 23 milhões de vacas ordenhadas. O setor leiteiro emprega aproximadamente 4 milhões de trabalhadores, sendo 11 mil só no transporte do leite da fazenda para a indústria e dos lácteos processados nas indústrias para o mercado (ZOCCAL, 2016).

São registrados no Ministério da Agricultura, 2 mil indústrias processadoras de leite com o Serviço de Inspeção Federal (SIF) (ZOCCAL, 2016). Só no segundo trimestre de 2017, os estabelecimentos que atuam com algum tipo de inspeção sanitária (Federal, Municipal e Estadual) receberam cerca de 5,64 bilhões de litros de leite cru, 8% a mais do que o registrado no mesmo período de 2016 (IBGE, 2017).



De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a aquisição de 418,6 milhões de litros de leite a mais no segundo trimestre de 2017 em relação ao segundo trimestre de 2016 foi impulsionada por aumento em 20 das 26 Unidades Federativas do país. Dados da Pesquisa Trimestral do Leite mostram um aumento nos estados de São Paulo, Goiás, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Minas Gerais obteve queda, mas continua liderando as aquisições de leite, seguido do Rio Grande do Sul e São Paulo (IBGE, 2017).

A maior parte da captação de leite pelos laticínios brasileiros tem sido realizada por estabelecimentos de grande porte, que representam uma pequena parcela do total de laticínios existentes no País (IBGE, 2017). Os 15 maiores laticínios brasileiros, captaram 9,67 bilhões de litros de leite em 2016. A capacidade de processamento dessas indústrias é estimada em 16,11 bilhões de litros por ano (PILA, 2017).

O consumo de leite no país varia muito conforme a mudança na renda dos consumidores. A diminuição da renda, reduz o consumo de lácteos pela população, principalmente iogurtes e queijos, porém isso não é tão evidente no leite UHT, pois esse tem uma maior inserção na alimentação do brasileiro (GRIGOL et al., 2017). Analisando o consumo nos últimos anos, a partir de 2009 teve uma perceptível evolução, decorrente de uma taxa de crescimento de 3,7% entre 2005 e 2010. De 2010 a 2015 a taxa permaneceu em 1,9% e em 2013 foi registrado um consumo de 179 litros/habitante/ano, mas devido a inflação, o consumo de lácteos, principalmente queijos e iogurtes, nos últimos anos tem registrado queda como reflexo da redução da renda real (VILELA et al., 2017).

### **3.3. O leite no estado de Rondônia**

Rondônia conta com um rebanho bovino de 13.397.970 cabeças, sendo 3.706.705 cabeças de bovinos leiteiros, distribuídos em 31.743 propriedades (EMATER, 2016), mais de 1/3 das propriedades rurais do estado, sendo em quase sua totalidade de atividade de base familiar (BRITO, 2011), a média da produção de leite do estado é de mais de 2,2 milhões de litros de leite por dia, dando à Rondônia o primeiro lugar em produção de leite da região Norte e o nono lugar de maior bacia

leiteira do país (RONDÔNIA, 2013), gerando mais de 60 mil postos de trabalho e gerando mais de 456 milhões de reais (OLIVEIRA, 2018).

Dos 52 municípios do estado, as indústrias de lácteo estão presentes em 35 municípios (EMATER, 2016), sendo 37 laticínios ativos com Sistema de Inspeção Federal (SIF), 17 laticínios com Sistema de Inspeção Estadual (SIE) e 18 laticínios/agroindústrias com Sistema de Inspeção Municipal (SIM) (SEBRAE, 2015).

As indústrias possuem capacidade instalada suficiente para produzir anualmente 87 mil toneladas de queijos, 67 milhões de litros de leite longa vida, além de 51 milhões de litros que se destinam à produção de leite em pó (BRITO, 2011).

Aproximadamente 75% do leite produzido em Rondônia são exportados para outros estados, sendo os principais, os estados de São Paulo e Amazonas. Entre 2007 e 2014, Rondônia exportou produtos lácteos exclusivamente para a Bolívia, entretanto, também em 2007, o estado começou as importações de produto lácteos, como queijos importados da Holanda, Suíça, Itália, Argentina e do Uruguai, em quantidades que variam de 9 a 192 toneladas por ano (SEBRAE, 2016).

### **3.4. Composição do leite**

A composição do leite inclui mais de cem mil moléculas, essenciais para a nutrição e proteção imunológica do neonato. O conhecimento dos compostos presentes no leite é importante para a determinação de sua qualidade, uma vez que define diversas propriedades industriais e fornece dados para a avaliação nutricional da dieta, revelando informações sobre a eficiência na utilização de nutrientes e sobre a saúde do animal (GONZÁLES; NORO, 2011).

O leite é definido como a secreção de pH neutro, 6,5 a 6,7, da glândula mamária de mamíferos (PEREZ JÚNIOR, 2002). É frequentemente descrito como uma suspensão coloidal, contendo glóbulos emulsificados de gordura, uma família heterogênia de pequenas e grandes proteínas, o carboidrato lactose, minerais, vitaminas e enzimas. Enquanto as classes de constituintes são similares do leite da maioria das espécies, são consideradas diferenças interespecíficas, qualitativamente e quantitativamente (TAMIME, 2009).

Os principais fatores os quais variam a composição do leite são: fatores genéticos (raça e indivíduo); estágio da lactação; status de saúde da vaca e fatores ambientais (alimentação, clima e método de ordenha) (TAMIME, 2009).

Devido a sua composição, o leite é considerado um importante alimento para os seres humanos, por ter considerável quantidade de proteínas, gordura e lactose (Quadro 1), ser rico em cálcio e ter vitaminas A, D, E, K e do complexo B, (Quadro 2), mas pelo mesmo motivo é um alimento de fácil degradação, sua qualidade está diretamente atribuída ao manejo dos animais e do leite (PEREZ JUNIOR, 2002).

**Quadro 1:** Principais componentes do leite bovino.

<b>Componente</b>	<b>Percentual no leite</b>
Água	86,0 a 88,0
Sólidos totais	12,0 a 14,0
Gordura	3,5 a 4,5
Proteína	3,2 a 3,5
Lactose	4,6 a 5,2
Minerais	0,7 a 0,8

FONTE: SOARES (2013).

### 3.4.1. Gordura

Cerca de 98% da composição de gordura do leite é formado por triglicerídeos mistos, predominando os ácidos graxos de cadeia curta. Os triglicerídeos são sintetizados e secretados pelas células epiteliais mamárias na forma de glóbulos gordurosos, e estão rodeados de uma dupla camada lipídica (SOARES, 2013; REECE, 2015). Esses glóbulos se encontram em suspensão no leite, dando um aspecto opaco e emulsivo ao mesmo (BEHMER, 1999).

Aproximadamente metade dos ácidos graxos que compõe a porção lipídica do leite provem de triglicerídeos presentes em quilomícrons e lipoproteínas de baixa densidade circulantes no sangue, 25% são provenientes da dieta, e o restante é elaborado nas células epiteliais da glândula mamária a partir do acetato e do  $\beta$ -hidroxibutirato (SOARES, 2013; REECE, 2015).

A gordura é o componente que mais varia no leite, sendo influenciada pela raça, origem/seleção/grau de sangue, alimentação, estação do ano, idade, estágio de lactação, mastite e outros fatores ambientais (PEREZ JUNIOR, 2002).

A quantidade de ácidos graxos de cadeia curta sintetizados na glândula mamária, está diretamente ligado à nutrição, pois esse processo envolve o ácido acético, produzido em maior quantidade em uma alimentação rica em volumoso. Portanto uma dieta com grande quantidade de concentrado, diminui a gordura do leite (SOARES, 2013).

As propriedades de fusão e cristalização da gordura do leite são de fundamental importância para a determinação das características físicas de produtos lácteos com alto teor de gordura, como queijos e sorvetes (VARNAM; SUTHERLAND, 1995), tornando a gordura o elemento de maior valor no leite (BEHMER, 1999).

### **3.4.2. Proteínas**

O leite bovino contém vários compostos nitrogenados, dos quais aproximadamente 95% ocorrem como proteína verdadeira e os outros 5% como compostos nitrogenados não-proteicos, sendo o principal a ureia (PEREZ JUNIOR, 2002). Das proteínas do leite, as três principais são a caseína, que se encontra em maior quantidade (85%) (SOARES, 2013), a lactoalbumina e a lactoglobulina. A maioria das proteínas são sintetizadas na glândula mamária, com exceção da albumina bovina e imunoglobulinas, pré-formadas no sangue e transferidas para o leite (PEREZ JUNIOR, 2002).

A caseína possui vários tipos e todas elas formam grânulos insolúveis denominados micelas, que possuem água e minerais (cálcio e fósforo) complementando essa estrutura. Na indústria as micelas são importantes, pois elas permitem que o leite permaneça em um estado coloidal, quando estas se dissociam, a caseína se torna solúvel, formando o coalho, importante para a fabricação de derivado não fluidos do leite (GONZÁLEZ, 2001).

A proteína é o segundo componente que mais varia devido a fatores ambientais, incluindo a nutrição. Normalmente, quando há aumento de proteína no

leite, há um aumento na produção total, o que não ocorre com a gordura (SOARES, 2013).

### **3.4.3. Lactose**

A lactose é o principal glicídio (açúcar) que compõe o leite, estando presente em quantidade que varia de 4,5 a 5,0 g/L, e é a responsável pelo sabor adocicado do leite (VALSECHI, 2001), é composta pelos monossacarídeos D-glicose, que chega à glândula mamária pelo sangue, e D-galactose, sintetizada na glândula. Tem uma relação muito estreita com a água, pois possui um fator osmótico de 50%, sendo responsável por permitir a entrada de água para as células epiteliais mamária na síntese do leite, tornando o elemento que menos varia por fatores ambientais (SOARES, 2013). Sua quantidade geralmente é mais baixa ao final da lactação e no leite de animais com mamites (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

A lactose comumente é usada para o enriquecimento dos leites modificados e na fabricação de farinhas lácteas destinadas a alimentação humana. Sua fermentação é importante na produção de produtos lácteos fermentados como nata, leiteiro, manteiga, leites acidificados, queijos frescos e curados e soro (VALSECHI, 2001).

### **3.4.4. Minerais e vitaminas**

A concentração de minerais no leite (Quadro 2) está relacionado ao equilíbrio físico-químico, a concentração de citrato, fosfato, bicarbonato em conjunto com as proteínas é responsável pelo sistema tampão do leite, permitindo que o pH permaneça em torno de 6,6 (NORO, 2001), sendo importante para a estabilidade do leite e dos produtos lácteos (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

Os principais minerais no leite são o cálcio e fósforo, que são utilizados pelos neonatos para o crescimento de ossos e o desenvolvimento de tecidos moles (GONZÁLEZ, 2001), mas outros minerais encontrados no leite são os bicarbonatos, magnésio, potássio e sódio. Todos os minerais se distribuem em duas fases, a fase solúvel e a coloidal, enquanto os íons monovalentes se encontram em grande parte

ou em sua totalidade na fase solúvel, acima de 66% de cálcio e 55% do fósforo podem estar na fase coloidal (VARNAM; SUTHERLAND, 1995), estando associados à micelas de caseína (NORO, 2001).

Além da lactose, os íons sódio, potássio e cloreto desempenham papel importante na determinação do volume de água no leite, devido sua pressão osmótica (FONTANELI, 2001).

Sabidamente, o leite é uma rica fonte de cálcio, a maior porcentagem desse cálcio está ligado ao fosfato (fosfato de cálcio), que é fundamental para manter a integridade das micelas de caseína; também se ligam a algumas caseínas e formam fortes complexos com o citrato, apenas 6% do cálcio no leite se encontra na forma solúvel (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

O leite é uma fonte de vitaminas lipossolúveis, A (em forma do precursor  $\beta$ -caroteno), D e E, e de vitaminas hidrossolúveis C, B1, B2, B6, B12, ácido pantotênico, niacina, biotina e ácido fólico (Quadro 2). O conteúdo de vitaminas do leite, porém, se modifica muito por perdas durante o processamento e armazenamento (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

**Quadro 2:** Concentração de minerais e vitaminas no leite (mg/100mL).

<b>Minerais</b>	<b>mg/100mL</b>	<b>Vitaminas</b>	<b><math>\mu</math>g/100 mL<sup>1</sup></b>
Potássio	138	Vit. A	30,0
Cálcio	125	Vit. D	0,06
Cloro	103	Vit. E	88,0
Fósforo	96	Vit. K	17,0
Sódio	58	Vit. B1	37,0
Sulfato	30	Vit. B2	180,0
Magnésio	12	Vit. B6	46,0
Microminerais <sup>2</sup>	<0,1	Vit. B12	0,042
		Vit. C	1,7

<sup>1</sup>  $\mu$ g = 0.001 gram.

<sup>2</sup>Inclue cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio, zinco, selênio, iodo e outros.

FONTE: WATTIAUX (2014).

### 3.5. Microbiota do leite

O leite dos bovinos, caprinos, ovinos e bubalinos naturalmente contém bactérias lácticas, que são bactérias que fermentam a lactose gerando lactato, e

incluem os gêneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* e *Enterococcus*. Ao ser armazenado em baixas temperaturas, ocorre o crescimento de bactérias psicotróficas como as *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, além de bactérias não fermentadoras da lactose, leveduras e bolores (QUIGLEY et al., 2013).

A origem da contaminação do leite é advinda de vários lugares, na impossibilidade de se extrair um leite inócuo, devido à própria microbiota do úbere e das bactérias que ascendem através do canal galactóforo, é necessário evitar ao máximo a contaminação do leite após a ordenha (BEHMER, 1999).

Em pesquisa, Santana et al. (2001) demonstraram que os tetos dos animais constituíram importante fonte de contaminação quando considerou as contagens obtidas e o total de animais ordenhados (SANTANA et al., 2001).

Mesmo em animais saudáveis, há sempre a presença de bactérias no interior do teto (cisterna, canal e extremidade do teto) que conseqüentemente irão contaminar o leite no momento da ordenha. A quantidade desses microrganismos costuma ser pequena e consiste em micrococos, bactérias corineformes (30 a 90%) e estreptococos (0 a 50%). Mas há também a presença de grande variedade de bactérias Gram positivas e Gram negativas, mesmo essa quantidade geralmente não ultrapassando 10% (ORDÓNEZ, 2005).

Em animais doentes os microrganismos atingem o interior do úbere pelo sangue, como é o caso do *Mycobacterium tuberculosis* e das *Brucellas*, e também podem estar presentes em úberes de animais com mastites, sendo os responsáveis pela infecção (ORDÓNEZ, 2005).

A multiplicação dos microrganismos está em estrita dependência da temperatura e de fatores do meio em que estão, que favoreçam seu crescimento. A temperatura em que se dá mais intensa multiplicação é em torno de 37°C, a temperatura em que o leite recém ordenhado se encontra (BEHMER, 1999).

Desde o momento que sai do úbere, o leite fica exposto a contaminações posteriores. Uma das fontes mais importantes é constituída pelo exterior dos tetos; que podem estar sujos de terra, de esterco, de material das camas e outros, causando grande contaminação do leite, podendo produzir contagens bacterianas superiores a 10<sup>5</sup> UFC/ mL, mas quando são limpos e secos cuidadosamente antes da ordenha, a taxa de bactérias do leite reduz-se consideravelmente. Outra fonte

importante de contaminação é o ordenhador; quando realizada a ordenha manual o indivíduo pode proporcionar quantidade variável de microrganismos através da manipulação (ORDÓNEZ, 2005).

Destacam-se, então, as principais fontes de contaminação do leite: a) Fezes do animal; b) ar (poeira); c) sujidades oriundas dos animais mal cuidados; d) ordenha mal feita, sem a devida higiene; e) falta de higiene corporal dos ordenhadores e tratadores (mão ou roupa suja); f) vasilhame sujo, lavado com água contaminada ou mal lavado e expostos em ambiente impróprio (BEHMER, 1999). Dentre os microrganismos oriundos dessas fontes estão esporos bacterianos, coliformes totais e termotolerantes, estreptococos fecais, micrococos, bactérias psicrotróficas e bactérias lácticas, sendo alguns desses microrganismos patogênicos (ORDÓNEZ, 2005).

O número e tipo de microrganismos no leite imediatamente depois da produção reflete diretamente a contaminação microbiológica durante a produção, coleta e manipulação. A microbiota do leite quando deixa a fazenda é influenciada significativamente pela temperatura de armazenamento e pelo tempo decorrido depois da coleta. Onde o leite é armazenado a temperaturas menores que 4°C, esta baixa temperatura normalmente retarda a multiplicação bacteriana por pelo menos 24 horas. Entretanto, se existir condição insalubre com o equipamento ou tanque de armazenamento, a baixa temperatura pode mascarar estas condições (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

Uma alta contagem bacteriana total (CBT) nem sempre está associada à problemas de mastite, para Fonseca e Santos (2000) um correto manejo, principalmente na preparação dos tetos (limpeza, *pré dipping* e secagem completa dos tetos), associado ao controle de mastites, são fundamentais para obtenção de um leite com baixa carga microbiana, pois deve-se atentar à presença de fezes e barro que podem elevar a quantidade de coliformes e bactérias psicrotróficas no produto. Importante também, é a limpeza dos utensílios utilizados para o transporte do leite, como baldes, latões e sistema de ordenha, com o objetivo de manter a qualidade do leite (FONSECA; SANTOS, 2000).

Pesquisa realizada por Santana (2001), constatou que nos pontos onde há curvas nas conexões das tubulações do equipamento de ordenha, a quantidade de microrganismos é bem maior, pois nestes pontos ficam retidos resíduos de leite que



favorecem a multiplicação bacteriana. Da mesma forma que o restante do equipamento, pontos como conexões, fundos cegos de instalações, necessitam ser desmontadas em intervalos regulares para uma higienização eficiente (SANTANA, 2001).

Ao analisar leites pasteurizados, Beloti et al. (1999), observaram uma alta frequência de microrganismos típicos de equipamentos de ordenha, indicando que parte destes microrganismos estão presentes devido à deficiências na higiene de produção do leite (BELOTI et al., 1999 apud SANTANA et al., 2001).

Considerando que o fator decisivo para a multiplicação das bactérias no leite é a temperatura, deve ser feito o resfriamento desse leite imediatamente após a ordenha à temperaturas que variem de 5 a 8°C, impedindo a multiplicação de bactérias lácticas e outras de crescimento rápido, como os coliformes (ORDÓNEZ, 2005). Contudo, o resfriamento não é a solução para se obter um leite com baixa carga microbiana, é necessário um bom manejo de ordenha, limpeza e sanitização de utensílios e garantir a saúde dos animais. Quando o leite é resfriado, bactérias mesófilas, aquelas que se multiplicam bem em temperatura ambiente, tem seu crescimento reduzido, contanto, se o leite permanece muito tempo no tanque de resfriamento, sem receber um tratamento térmico adequado, começam a se multiplicar bactérias psicotróficas, que são bactérias que tem seu crescimento em temperaturas mais baixas (FONSECA; SANTOS, 2000).

As bactérias psicotróficas são uma das principais causas de deterioração do leite resfriado, isso se deve à produção de enzimas extracelulares, sendo lipases e proteases as mais importantes. As lipases degradam a gordura do leite, causando rancidez ao mesmo, e as proteases degradam a caseína, deixando o leite com uma cor cinza e sabor amargo (QUIGLEY et al., 2013). Essas enzimas são hidrolíticas termorresistentes, as quais retêm de 30 a 100% de sua atividade após processamentos térmicos (pasteurização e ultrapasteurização), sendo assim, diminuem o tempo de prateleira dos produtos, alteram cor, sabor e odor e diminuem o rendimento na fabricação de queijos (ÂNGELO et al., 2014).

As psicotróficas mais comumente encontradas e que causam a deterioração do leite são as *Pseudomonas* spp., podendo se tornar os microrganismos predominantes no leite cru armazenado em baixas temperaturas, constituindo até 70-90% da população microbiana. Há também outros menos importantes, mas que

podem ser encontrados nessas condições, como *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Staphylococcus* e algumas bactérias ácido lácticas (QUIGLEY et al., 2013).

Outra importante fonte de contaminação são as águas utilizadas para limpeza dos utensílios. Mesmo sendo potável, pode ocorrer a contaminação da água em tanques de armazenamento insuficientemente protegidos de pássaros, insetos, pó e outros contaminantes (ORDÓNEZ, 2005).

### **3.6. Coliformes totais e termotolerantes**

#### **3.6.1. Coliformes totais**

Os coliformes totais são um grupo específico de bactérias da família Enterobacteriaceae que, diferentemente de outras enterobactérias que utilizam apenas a glicose, são capazes de fermentar a lactose produzindo ácido e gás, fator importante quando se quer determinar a presença desses microrganismos no alimento (BELOTI, 2015).

Os coliformes totais são bacilos Gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de se desenvolverem na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a 35°C no período de 24 a 48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase (PONGELUPE et al., 2009).

Alguns gêneros que estão no grupo dos coliformes são *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, incluindo cerca de 20 espécies, algumas dessas bactérias colonizam o trato gastrointestinal dos homens e animais de sangue quente, enquanto outras são espécies não entéricas (SILVA, 2002).

Essas bactérias estão presentes no ambiente, embora algumas possam causar problemas de saúde no homem, encontrá-las não significa que o alimento esteja impróprio para o consumo, mas é um indicador de eficácia do processamento térmico, por exemplo, se for encontrado coliformes totais no leite pasteurizado é sinal de que esse leite está em contato com um agente contaminante após o

processamento térmico. Os coliformes estão presentes no ambiente de ordenha, são frequentes na indústria e tem como principal carreador a água, portanto, sua presença no leite cru é esperada, mas como todas as bactérias Gram negativas são sensíveis à altas temperaturas, sendo então eliminados pela pasteurização e a ultrapasteurização (BELOTI, 2015).

### **3.6.2. Coliformes termotolerantes**

Esse grupo de bactérias, antes denominados de coliformes fecais, é formado pelos coliformes totais que têm a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás em uma temperatura de 44-45,5°C. A principal espécie encontrada nas culturas é a *Escherichia coli*, com prevalência de até 90% (FRANCO; LANDGRAF, 2001).

Dentre os quatro gêneros do grupo dos coliformes termotolerantes, apenas a *E. coli* tem o habitat primário o intestino de homens e animais, sendo os outros gêneros (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*) capazes de se desenvolverem no meio ambiente. Portanto ao confirmar a presença de *Escherichia coli* no alimento, conclui-se que esse está tendo uma contaminação de origem fecal (BELOTI, 2015).

A presença de coliformes termotolerantes ou de *E. coli* nos alimentos, fornece com maior segurança informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indica a eventual presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2001).

#### **3.6.2.1. *Escherichia coli***

A principal bactéria do grupo dos coliformes termotolerantes é a *Escherichia coli*. Se caracteriza por ser um bacilo, Gram negativo, anaeróbia facultativa, que pertence à família Enterobacteriaceae (SANTOS et al., 2009), sendo amplamente distribuída na natureza, e faz parte da microbiota natural do intestino do homem e dos animais, tendo um papel importante para o funcionamento do organismo (SOUZA et al., 2016). Entretanto, algumas *E. coli* são patogênicas, causando doenças do trato intestinal, e também doenças fora do trato intestinal (CDC, 2015). É

a causa mais frequente em infecções bacterianas comuns, incluindo colecistite, bacteremia, colangite, infecções do trato urinário e outras infecções como meningite e pneumonia neonatal (MADAPPA, 2017).

Entre a década de 40 e 50, as primeiras cepas patogênicas, causadoras de diarreia em humanos e animais, como porcos, ovelhas, cães, coelhos e bois, de *E. coli* foram descritas. Inicialmente foram todas classificadas como enteropatogênicas (EPEC), posteriormente as bactérias patogênicas puderam ser classificadas de acordo com seus mecanismos de infecção e fatores de virulência (proteínas de adesão, de invasão e proteínas tóxicas). Esses fatores vão caracterizar o tipo de manifestação clínica, que vai desde diarreias coleriformes até colites agudas, disenteria e morte (NATARO; KAPER, 1998; CHEN; FRANKEL, 2004).

Existem seis categorias patogênicas que causam infecções intestinais: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou *E. coli* produtora da toxina Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC) (SOUZA et al., 2016).

A presença da *E. coli* no alimento pode indicar contaminação fecal direta, ocorrendo no processamento da matéria prima e na falta de higiene dos manipuladores; e indireta, onde o microrganismo é carregado pela água usada no processamento da matéria prima (SILVA, 2002). No alimento processado, a presença de *E. coli*, indica que houve um processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais frequentes aquelas provenientes da matéria-prima, equipamento sujo ou manipulação sem cuidados de higiene (FRANCO; LANDGRAF, 2001).

Atualmente, um dos fatores que preocupam a comunidade científica é a grande probabilidade de colonização da mucosa intestinal do homem, por meio da ingestão de alimentos contaminados, por microrganismos extremamente resistentes à maioria dos antimicrobianos utilizados no tratamento de enfermidades. O uso abusivo e indiscriminado de antimicrobianos tem levado à resistência relacionada a produção da enzima  $\beta$ -lactamase (DIAS et al., 2010), uma das variedades da enzima  $\beta$ -lactamase é a ESBL (Beta Lactamase de Amplo Espectro), que leva as bactérias tornarem-se resistentes à uma grande variedade de penicilinas e cefalosporinas. Dentre as bactérias produtoras de ESBL estão as pertencentes à família

Enterobacteriaceae, como as *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli*, sendo que apenas nos Estados Unidos cerca de 26.000 infecções e 1.700 óbitos são atribuíveis às Enterobacteriaceae produtoras de ESBL, a cada ano (CDC, 2013).

Outra preocupação advinda da resistência a antimicrobianos das bactérias da família Enterobacteriaceae, é a resistência a carbapanema, frequentemente considerado o antibiótico de último recurso. Só nos Estados Unidos, todos os anos, as *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli* resistentes a carbapanema, são responsáveis por 9.300 infecções, resultando em 610 óbitos (CDC, 2013).

As bactérias da família Enterobacteriaceae são algumas das principais envolvidas em surtos de doenças de origem alimentar, estando relacionadas, principalmente, ao consumo de leite cru e seus subprodutos. Tendo em vista que já foi detectado a presença de *Klebsiella* spp. produtora de ESBL em leites provenientes de tanque de expansão do Estado de São Paulo, e a resistência dos coliformes isolados para inúmeros antibióticos, evidencia-se a importância a ser dada para uma inspeção criteriosa do produto, pois a prevalência de enterobactérias no leite dos tanques indica inúmeras falhas na obtenção do produto (SIQUEIRA et al., 2014).

### **3.7. Leite não inspecionado comercializado informalmente**

De acordo com a Pesquisa Trimestral do Leite, realizada pelo IBGE, houve um crescimento do mercado informal do leite em 2016, sendo o segundo ano consecutivo que isso ocorre. Em 2014, o mercado era de 29,5%, mas em 2016 esse número passou para 31,3% (MILKPOINT RADAR, 2017).

A explicação para um número tão expressivo é o fato de muitas pessoas ainda acharem que o leite cru é de melhor qualidade, pois é caseiro, portanto não tem aditivos químicos, sendo mais saudável e nutritivo (SOUSA, 2005), além de ter um preço mais acessível; e pela conveniência, pois muitas pessoas recebem o leite em casa diretamente do produtor (BERSOT et al., 2010).

Para melhor esclarecer, o comércio informal pode ser definido, mesmo não havendo um conceito exato, como sendo aquele que prevalece o mínimo de intervenção do governo, não cumprem as legislações fiscais e trabalhistas, sem

contrato social registrado junto à seguridade social (SANTOS, 2015). Ao falar do comércio informal de alimentos, observa-se o comércio de inúmeros alimentos, tanto crus, como os alimentos prontos, esses impulsionados principalmente por pessoas que não possuem outra fonte de renda (PADILHA et al., 2016). Com o comércio informal do leite a situação se difere um pouco, Campos Filho (2001) ressalta que além da procura do consumidor por um leite fresco e mais barato, há também o fato dos produtores receberem centavos pelo leite, então muitas das vezes, buscado um melhor rendimento, vendem seu produto informalmente. Mesmo depois de anos, Pinto (2015) relata os mesmos fatores para a persistência de uma alta porcentagem do comércio informal do leite; os compradores garantem a qualidade por conhecerem o produtor e/ou fornecedor e o produtor que prefere fazer a venda direta, devido ao preço obtido ser maior do que o recebido da indústria.

Padilha et al. (2016) relataram que dentre os pontos de venda de alimentos de maneira informal, uma pequena parcela estava dentro das normas estabelecidas na legislação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que determina os padrões sanitários para o funcionamento de estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos, atendendo os itens necessários para a garantia de um bom funcionamento e fornecimento de alimentos ao consumidor. A pesquisa revela a importância da inspeção dos alimentos comercializados e do processamento de alimentos crus, como o leite. A procedência incerta, a falta de estrutura e higiene na manipulação desses alimentos é um importante fator para a propagação de DTAs. Os alimentos podem se tornar veiculadores de agentes patogênicos, que levam à enfermidades conhecidas como DTAs, ao estarem contaminados. As duas principais origens das doenças são agentes químicos, como pesticidas, fármacos, metais pesados e aditivos; e biológicos, que são microrganismos como bactérias, fungos, vírus e protozoários e toxinas produzidas por alguns desses patógenos (CARSTENS, 2006).

Os mecanismos patogênicos das DTAs são definidos em três categorias: as infecções, as quais se dão pela ingestão do alimento com o microrganismo invasivo, que penetra e invade os tecidos, tendo como exemplo bactérias do gênero *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Campylobacter jejuni*, as intoxicações, que são desenvolvidas após a ingestão do alimento com toxinas pré formadas por alguns gêneros de bactérias e alguns fungos, como os *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

*cereus* (cepa emética), e os *Clostridium botulinum* e as toxinfecções, que são geradas quando se ingere alimentos contaminados com microrganismos que ao se multiplicarem ou sofrerem lise no trato gastrintestinal, desenvolve um quadro de toxinfecção, gerada por bactérias como *Bacillus cereus* (cepa diarreica), *Escherichia coli* enterotoxigênica, *Vibrio cholerae* e *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2010).

De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC), existem 250 doenças transmitidas por alimentos, sendo a maioria causadas por uma variedade de agentes, principalmente bactérias. Estima-se que a cada ano, 48 milhões de pessoas adoecem por alguma DTA, 128.000 são hospitalizadas e 3.000 morrem. Os grupos mais susceptíveis são gestantes, idosos, crianças e pessoas imunodeprimidas (CDC, 2018). Somente nos EUA, um estudo estimou que entre 1998 a 2008, 271.974 doenças foram constatadas (PAINTER et al., 2013). Ainda segundo o CDC, entre 1993 a 2012, nos EUA, foram relatados 127 surtos, incluindo 1.909 doenças e 144 hospitalizações, ligados ao consumo de leite cru. Os principais agentes relacionados foram *Campylobacter*, *Escherichia coli*, produtora de toxina Shiga e *Salmonella* (CDC, 2017).

No Brasil dados mostram que em 2016 ocorreram 543 surtos de doenças e 9907 doentes. Entre 2007 a 2017 a faixa etária em que ocorreu os casos foi entre pessoas de 20 a 49 anos. Dentre os agentes a maioria das doenças foram em decorrência de contaminação bacteriana (95,9%), sendo a *E. coli* a principal espécie. Quanto aos alimentos, o leite e derivados foram responsáveis por 2,8% dos surtos, devendo-se levar em consideração que em mais da metade dos registros foram ignorados ou inconclusivos o alimento responsável pelo surto (BRASIL, 2017).

Os alimentos de origem animal e vegetal, e até mesmo a água, são veículos de microrganismos patogênicos causadores de toxinfecções alimentares. Dentre os alimentos, o leite é uma fonte rica para os microrganismos devido sua riqueza de nutrientes (SAEKI; MATSUMOTO, 2010), sendo fonte de proteína, lipídeos, açúcares, sais minerais e vitaminas (ROCHA; OLIVEIRA; CARVALHO, 2016). Para a conservação e como forma de garantir a saúde do consumidor, o leite deve ser submetido ao processo de pasteurização (o emprego do calor para destruição de microrganismos patogênicos) quando for destinado ao consumidor na forma fluida (SANTANA, 2015).

Com a criação do Decreto Lei nº1283 em 1950, estabeleceu-se a obrigatoriedade da prévia fiscalização, industrial ou sanitária, de todos os produtos de origem animal (BRASIL, 1950), no entanto, devido ao seu potencial transmissor de doenças, o leite cru teve sua comercialização proibida a partir de 1970 (BRASIL, 1970). Atualmente a qualidade do leite cru refrigerado, do leite tipo A e do leite pasteurizado, seguem as normas da Instrução Normativa nº 62 de 2011. Nela estão estabelecidos os padrões de produção, identidade e qualidade do leite, o qual exige um maior controle de doenças nos animais, controle de mastites, estabelece a temperatura de armazenamento do leite, dentre outros pontos que são necessários para se obter um leite com baixa carga microbiana, melhorando a qualidade do leite e derivados que serão processados (BRASIL, 2011).

A informalidade atinge diversos setores do comércio, no sistema de agroindústria do leite pode ser definida como sendo o produto que não passou pelo processo de pasteurização, a matéria prima e seus derivados não passaram pela inspeção do órgão responsável ou ainda não contribuíram com o fisco. Conseqüentemente esse produto não deve ser comercializado por não ser seguro ao consumidor (BÁNKUTI; SCHIAVI; SOUZA FILHO, 2005).

A qualidade do leite é influenciada por diversos fatores, como fatores zootécnicos, manejo, saúde da glândula mamária, alimentação e outros fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite ordenhado. Mesmo o leite sendo refrigerado, ocorre a multiplicação de algumas bactérias deterioradoras, comprometendo o produto final (GUERREIRO et al., 2005)

Dentre os contaminantes do leite, tanto por bactérias deterioradoras quanto por bactérias patogênicas, estão inclusos, a água utilizada na limpeza dos equipamentos de ordenha e no tanque de refrigeração, e o ambiente em que os animais permanecem antes e após a ordenha (GUERREIRO et al., 2005).

### **3.8. Legislação**

No Brasil o beneficiamento do leite começou na década de 20 do século XX, quando algumas indústrias se instalaram e passaram a distribuir o leite tratado pela pasteurização lenta, mas ainda assim o leite cru continuava sendo comercializado



até que foi instituída leis que regulamentavam a distribuição do leite pasteurizado (ALVES, 2001). Então no dia 5 de fevereiro de 1970 é publicado o Decreto Lei nº 66.183, que proíbe a comercialização do leite cru para consumo direto da população em todo o território brasileiro (BRASIL, 1970).

Dada a importância do leite para a economia do país e buscando obter um produto de melhor qualidade, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, considerando a necessidade de aperfeiçoar e modernizar a legislação sanitária sobre a produção do leite, instituiu a Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002, que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite, o qual, também, é classificado em tipo A, tipo B, tipo C, cru refrigerado e pasteurizado (BRASIL, 2002).

Dentre todos os padrões de qualidade estabelecido pela IN 51 estavam a quantidade máxima permitida de coliformes totais e termotolerantes. O Quadro 3 traz os valores máximos permitido no leite pasteurizado, que por ter passado por um processamento térmico, tem a quantidade desses microrganismos reduzida.

**Quadro 3:** Requisitos microbiológicos do leite pasteurizado e leite cru refrigerado transportado a granel.

	<b>Coliformes 30/35°C (NMP/mL)</b>	<b>Coliformes 45°C (NMP/mL)</b>
<b>Leite Pasteurizado Tipo A</b>	N > 5; c > 0; m < 1	N > 5; c > 0; m > ausência
<b>Leite Pasteurizado Tipo B</b>	n > 5; c > 2; m > 2; M > 5	n > 5; c > 1; m > 1; M > 2
<b>Leite Pasteurizado Tipo C</b>	n > 5; c > 2; m > 2 M > 4	n > 5; c > 1; m > 1 M > 2
<b>Leite Cru Refrigerado Transportado a Granel</b>	n > 5 ; c > 2 ; m > 2 M > 4	n > 5; c > 1; m > 1 M > 2

FONTE: Adaptado da Instrução Normativa nº 51 de 2002.

No mesmo regulamento técnico, estavam determinados as datas para que todo o leite do país estivesse dentro dos padrões de qualidade, no entanto em 2011, foram feitas mudanças na IN 51 e assim passou a vigorar a Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011, a qual estabelece o Regulamento Técnico de Qualidade e Identidade do Leite Tipo A, Leite Pasteurizado e Leite Cru Refrigerado e

seu transporte a granel. Sendo assim, deixa de existir os leites tipo B e C (BRASIL, 2011).

O leite tipo A é o leite produzido, beneficiado e envasado na própria propriedade denominada “Granja Leiteira”, tendo, esta, que seguir os regulamentos técnicos estabelecidos pela Lei, que vai desde o controle sanitário dos animais, até o envase do produto pronto para o transporte (BRASIL, 2011).

O leite cru refrigerado deve ser destinado exclusivamente para a indústria beneficiadora, onde passa pela pasteurização para consumo direto ou como matéria prima para derivado lácteos. Deve ser armazenado a 7° C na propriedade e chegar à indústria em até 3 horas e mantido a no máximo 10° C, sendo, então, pasteurizado, resfriado e envasado em menor tempo possível, evitando possíveis contaminações (BRASIL, 2011).

Na Instrução Normativa nº 62 observa-se as mudanças na padronização da qualidade microbiológica do leite (Quadro 4).

**Quadro 4:** Padrão microbiológico do leite Pasteurizado tipo A e Pasteurizado.

	<b>Coliformes 30/35°C (NMP/mL)</b>	<b>Coliformes 45°C (NMP/mL)</b>
<b>Leite Pasteurizado Tipo A</b>	N = 5; c = 0; m < 1	N = 5; c = 0; m= ausência
<b>Leite Pasteurizado</b>	n = 5 ; c = 2 ; m = 2 M =4	n = 5; c = 1; m = 1 M = 2

FONTE: Adaptado da Instrução Normativa nº 62 de 2011.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Local do estudo

A pesquisa foi realizada no município de Rolim de Moura, no estado de Rondônia. O alvo da pesquisa foram as feiras livres que ocorrem todos os dias da semana e em diferentes pontos da cidade, tendo, as amostras, sido obtidas de diferentes comerciantes.

### 4.2. Obtenção das amostras

Foram adquiridas 20 amostras de leite cru comercializados de maneira informal nas feiras livres do município, obtidas no período de Abril a Maio de 2018, sendo a pesquisa realizada durante cinco semanas.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia *campus* Rolim de Moura. O leite foi mantido sob refrigeração em caixa térmica com gelo reciclável e transportadas ao laboratório no dia da obtenção das amostras, onde foram mantidas refrigeradas em temperatura de 4°C até o momento das análises.

### 4.1. Processamento

As amostras foram homogeneizadas e abertas sob a área de segurança do Bico de Bunsen. Foram colhidos 25 mL de leite e diluídos em 225 mL de Água Peptonada 0,1% esterilizadas, sendo efetuadas diluições seriadas até  $10^{-3}$ , procedendo com a colheita de 1000 $\mu$ L da diluição  $10^{-1}$  para tubo contendo 8 mL de Água Peptonada, misturadas com o auxílio de equipamento Vórtex, e sendo transferido 1000 $\mu$ L dessa diluição para um segundo tubo com Água Peptonada para a diluição  $10^{-3}$ .

Para a detecção de coliformes totais e termotolerantes, foi usado o método Número Mais Provável. Dentro de tubos contendo Caldo Lactosado e tubos de Durham foram inoculados 100 $\mu$ L das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e incubados a 35° C

por 24 horas, as amostras que apresentaram produção de gás e turvação do meio foram submetidas à prova de confirmação (NASCENTES; ARAÚJO, 2012).

Para a confirmação de coliformes totais, alíquotas dos tubos positivos para a fermentação de lactose foram inoculados em Caldo Verde Brilhante Bile Lactose 2% e incubados a 35°C por 24 horas. Para a confirmação de coliformes termotolerantes, alíquotas dos tubos positivos para a fermentação de lactose foram inoculados em Caldo *Escherichia coli* (EC), incubados a 45°C por 24 horas. A partir dos tubos de Caldo EC positivos, alíquotas foram estriadas em Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), para o crescimento de apenas *Escherichia coli* (NASCENTES; ARAÚJO, 2012).

Metodologia aplicada de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 20 amostras obtidas, 12 apresentaram resultados positivos para coliformes totais e 8 para coliformes termotolerantes (Figura 1, 2, 3, 4 e 5), desses apenas duas amostras não houve crescimento de *Escherichia coli* em ágar EMB, tendo as outras seis placas, apresentado resultado positivo para a bactéria. Pode-se observar os valores de cada amostra para coliformes totais e termotolerantes com base na Tabela de Número Mais Provável (NMP/mL) (Tabela 1, Gráfico 1).

**Tabela 1** – Coliformes totais e termotolerantes de cada amostra analisada.

<b>Amostras</b>	<b>Coliformes a 30/35°C (NMP/mL)</b>	<b>Coliformes a 45°C (NMP/mL)</b>
<b>01</b>	>1100	9,4
<b>02</b>	>1100	23
<b>03</b>	Negativo	Negativo
<b>04</b>	23	23
<b>05</b>	Negativo	Negativo
<b>06</b>	240	240
<b>07</b>	>1100	Negativo
<b>08</b>	>1100	>1100
<b>09</b>	9,4	9,4
<b>10</b>	Negativo	Negativo
<b>11</b>	>1100	Negativo
<b>12</b>	Negativo	Negativo
<b>13</b>	Negativo	Negativo
<b>14</b>	>1100	Negativo
<b>15</b>	>1100	23
<b>16</b>	9,4	Negativo
<b>17</b>	Negativo	Negativo
<b>18</b>	>1100	23
<b>19</b>	Negativo	Negativo
<b>20</b>	Negativo	Negativo

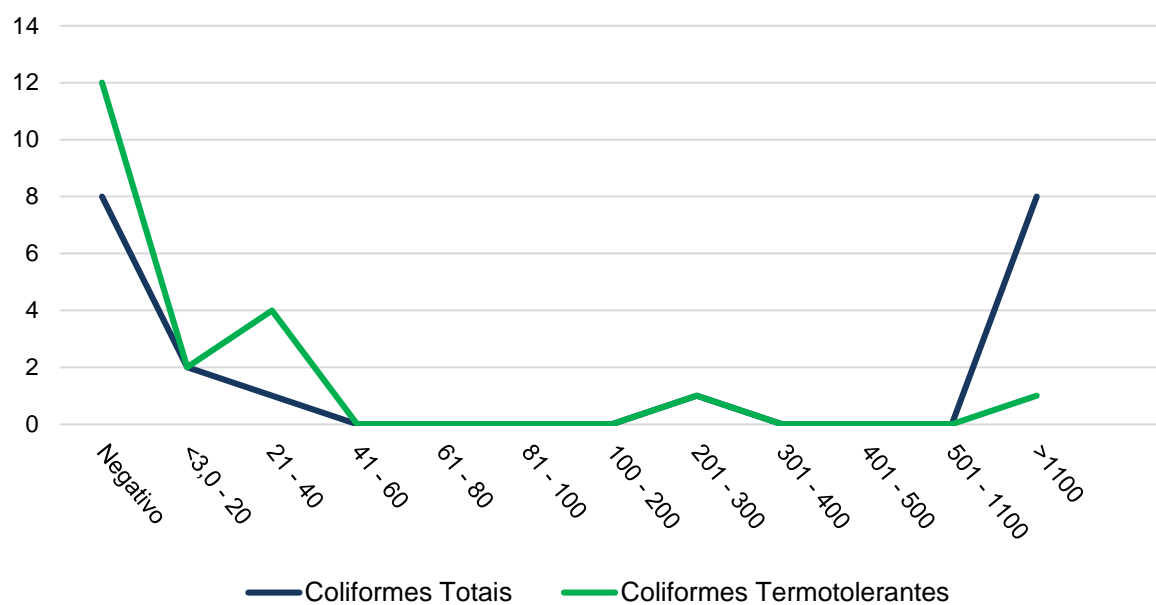


Gráfico 1 - Número de amostras em relação aos valores da tabela de Número Mais Provável

Fonte: Resultados da Tabela 1.



Figura 1 – Tubos contendo Caldo Lactosado com amostras negativas para bactérias produtoras de gás.

Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 2 – Tubos contendo Caldo Lactosado com amostras positivas para bactérias produtoras de gás.

Fonte: Arquivo pessoal.

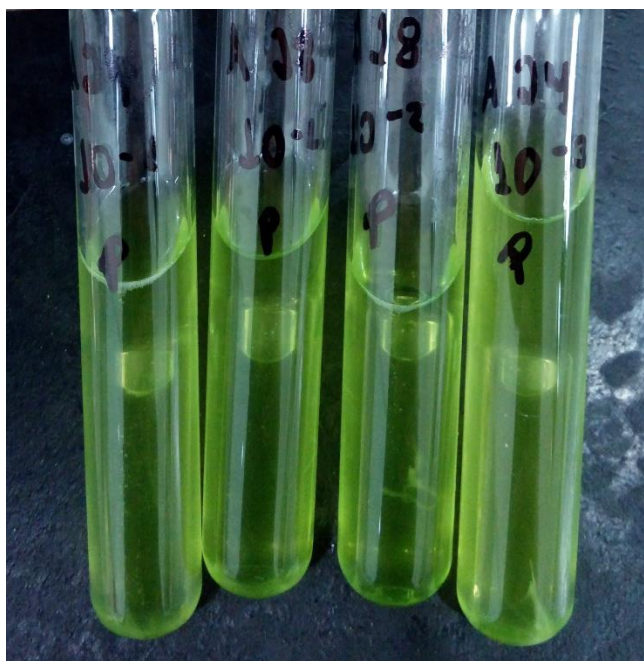


Figura 3 – Tubos contendo caldo Verde Brilhante positivos para coliformes totais.

Fonte: Arquivo pessoal.

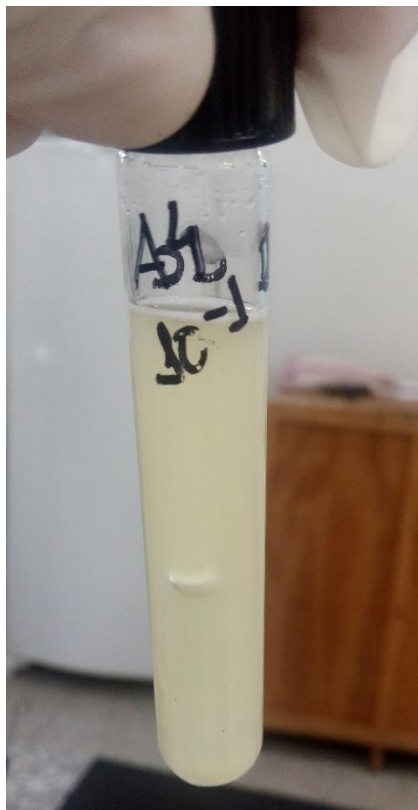


Figura 4 – Tubo contendo caldo *Escherichia coli* (EC) sendo observado resultado positivo da amostra.  
Fonte: Arquivo pessoal.

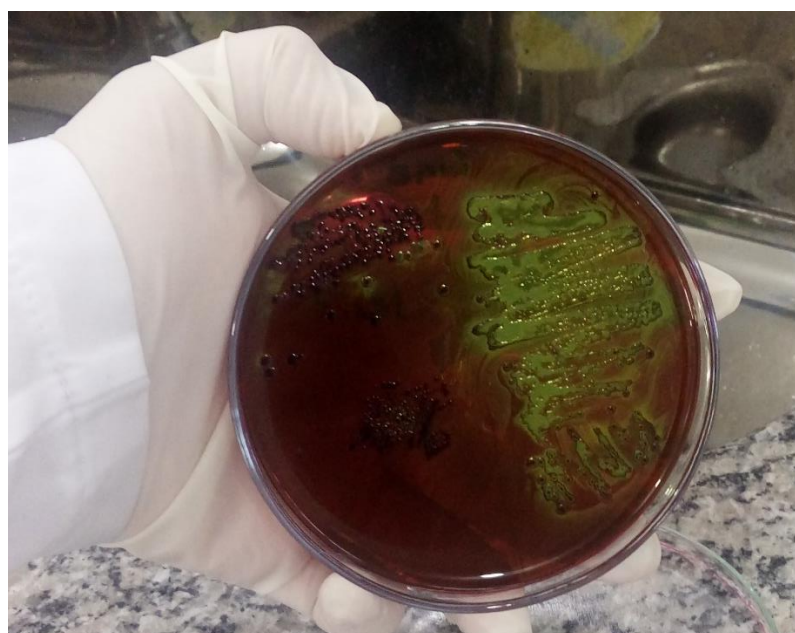


Figura 5 – Placa com ágar EMB apresentando crescimento de *E. coli*.  
Fonte: Arquivo pessoal.



A legislação vigente que normatiza a qualidade do leite no país, não regulamenta a comercialização de leite cru *in natura* e nem adota valores limites para coliformes totais e termotolerantes do leite cru refrigerado, contudo, Silveira e Bertagnolli (2014), ao avaliarem o leite cru comercializado de maneira informal em feiras livres, constataram uma grande presença de coliformes totais e termotolerantes em todas as amostras adquiridas, sendo o fato, também observado no presente trabalho, no qual 60% das amostras foram positivas para coliformes totais, enquanto em 40% houve presença de coliformes termotolerantes. A alta presença dessas bactérias, provavelmente é em decorrência da obtenção não higiênica do leite, desde a ordenha até o consumidor final.

Nascente e Araújo (2012), avaliando o leite cru, comercializados em Minas Gerais, obtiveram resultados que variaram entre 3 a >1100 NMP/ mL de coliformes, além de encontrarem números elevados de *Pseudomonas* e *Staphylococcus aureus* em todas as amostras, tendo alguns valores incontáveis de colônias, e bactérias aeróbias totais e *Bacillus* em 80% dos produtos obtidos. Tendo o autor associado o elevado número de microrganismos no leite cru à inadequada obtenção higiênica do leite, como a possível permanência de resíduos de leite na superfície dos equipamentos de ordenha. Contaminação, essa, também evidenciada no nosso estudo, confirmando a necessidade da obtenção higiênica do leite.

Em pesquisa realizada por Melo et al. (2010) em Alagoas, amostras de leite cru obtidos de duas fazendas apresentaram valores de até 23 NMP/ mL de coliformes termotolerantes. Sá et al. (2011) analisaram 110 amostras de leite cru refrigerado de propriedades leiteiras de Minas Gerais e constataram a presença de coliformes totais em 94,54% das amostras e coliformes termotolerantes em 78,18% das amostras. Fazendo uma relação com o presente estudo, pode-se observar que mesmo tendo sido encontrados valores acima dos de Melo e uma porcentagem menor que Sá, a pesquisa mostra que a principal fonte de contaminação do leite é dentro da propriedade, podendo ser por meio de mastites, pelas mãos ou roupas de quem ordenha, a inadequada higiene dos tetos, ambiente com sujidades, tanque de armazenamento do leite, dentre outros fatores que levam a uma contaminação por esses microrganismos que permanecem no leite quando este é comercializado sem o devido tratamento térmico.

Para melhor ilustrar, Costa (2006), comparou a quantidade de coliformes presentes em baldes coletores, latão de acondicionamento e mãos do ordenhador antes e depois da higienização; obtendo uma expressiva redução da contagem desses microrganismos em todas as propriedades alvo do estudo, demonstrando a importância de obter o leite de forma higiênica.

Dentre os coliformes termotolerantes, a *Escherichia coli* é a de maior relevância devido sua importância para a saúde pública. No atual estudo, dentre as amostras que foram positivas para coliformes termotolerantes, 75% se confirmaram ser *Escherichia coli*. Essa bactéria constitui a microbiota do trato intestinal de humanos e animais, sua presença no leite indica possível contaminação por esterco, solo e água contaminada. *E. coli* e coliformes são frequentemente usadas como microrganismos indicadores, e a presença de *E. coli* implica um risco de que outros patógenos entéricos possam estar presentes na amostra. Dentre quatro regiões da Malásia onde foram colhidos amostras de leite cru de 360 propriedades, para a análise microbiológica, todas se apresentaram positivas para coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria* spp. tendo a presença de coliformes em 89,9% das amostras, *E. coli* em 64,5% das amostras, sendo observados em 33,5% a *Escherichia coli* O157:H7, principal sorotipo das *E. coli* enterohemorrágicas (CHYE; ABDULLAH; AYOB, 2004).

No Brasil, Batista et al. (2014), encontraram *E. coli* O157:H7 em uma amostra de 26 propriedades do recôncavo Baiano, ainda que a presença tenha sido baixa, é importante frisar que a presença de apenas uma unidade formadora de colônia da bactéria no alimento, já constitui risco à saúde pública (BATISTA et al., 2014).

Sendo o leite uma fonte de infecção de bactérias patogênicas é importante informar à quem o consome, que o leite deve passar por um processamento térmico. A legislação proíbe a comercialização do leite *in natura*, pois deve ser passado pela pasteurização ou ultrapasteurização, entretanto ainda é comum o consumo do leite cru vindo diretamente da propriedade, então para evitar possíveis infecções de bactérias patogênicas deve ser adotado a fervura do leite antes do consumo, como comprovado por Porcionato et al. (2008) que após a fervura do leite os resultados demonstraram que os coliformes totais e termotolerantes se tornaram ausentes.

Ainda que a fervura diminua a carga de coliformes, o leite pode apresentar contaminação de outros microrganismos patogênicos, que por muitas das vezes não

são eliminados com a fervura caseira, levando à problemas de saúde à quem o consome.

É bom salientar que existem as bactérias psicotróficas, que apesar de serem destruídas após a pasteurização, suas enzimas são termotolerantes e após o tratamento continuam a deteriorar o leite, diminuindo a qualidade para o consumidor, reforçando a necessidade de uma obtenção plenamente higiênica do leite.

## 6. CONCLUSÃO

A inspeção do leite comercializado é de extrema importância para que não afete a saúde pública das comunidades

A alta presença de coliformes indica a exposição do leite à contaminantes externos.

A presença de 75% (n= 8) de *Escherichia coli* nas amostras analisadas, chamam a atenção para sérios riscos à saúde dos consumidores

É fundamental que seja feita a vigilância desde a saúde dos animais até as prateleiras do comércio

Devem ser realizadas orientações aos produtores, para que esses adotem medidas de obtenção higiênica do leite, evitando microrganismos patogênicos e também bactérias psicrófilas, as quais produzem enzimas que deterioram o leite.

O tratamento térmico do leite é fundamental para evitar a transmissão de doenças.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, D. R. Industrialização e comercialização do leite de consumo no Brasil. In: MADALENA, F. E.; MATOS, L. L.; HOLANDA JÚNIOR, E. V. **Produção de Leite e Sociedade: uma análise crítica da cadeia do leite no Brasil**. Minas Gerais: Editora Belo Horizonte, 2001. p. 75-84.
- ÂNGELO, F. F.; RIBEIRO, C. S.; OLIVEIRA, L.; ARAUJO, T. F.; CARDARELLI, H. R. Bactérias psicrotóxicas em leite cru refrigerado. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. São Paulo, v. 12, n. 22, jan. 2014.
- BÁNKUTI, F. I.; SCHIAVI, S. M. A.; SOUZA FILHO, H. M. Quem são os produtores de leite que vendem em mercados informais?. 2005. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/229047932\\_Quem\\_sao\\_os\\_produtores\\_d\\_e\\_leite\\_que\\_vendem\\_em\\_mercados\\_informais](https://www.researchgate.net/publication/229047932_Quem_sao_os_produtores_d_e_leite_que_vendem_em_mercados_informais)>. Acesso em: 13 maio 2018.
- BATISTA, A. S.; BARROS, L. S. S.; SANTOS, E. S. V.; SILVA, M. H. *Escherichia coli* O 157: H7 em leite produzido no Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. V.8, n.2, p. 87-111, abr./jun. 2014.
- BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite: leite, queijo, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise**. São Paulo: Livraria Nobel S.A., 1999. 320 p.
- BELOTI, V. **Leite: Obtenção, Inspeção e Qualidade**. Editora: Planta, ed. 1, 420 p., jan. 2015.
- BERSOT, L. S.; DAGUER, H.; MAZIERO, M. T.; PINTO, J. P. A. N.; BARCELLOS, V. C.; GALVÃO, J. A. Raw milk trade: profile of the consumers and microbiological and physicochemical characterization of the product in Palotina – PR region. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 65, n. 373, p.3-8, 2010.
- BRASIL. Decreto nº 66.183, de 5 de fevereiro de 1970. Regulamenta o Decreto-lei nº 923, de 10 de outubro de 1969, que dispõe sobre a comercialização do leite cru.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.
- BRASIL. Instrução Normativa MAPA nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.
- BRASIL. Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal.

BRASIL. Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 160 p., 2010.

BRASIL. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica**. Brasília, maio 2017.

BRITO, L. G. Sistema de produção de leite para Rondônia. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Porto Velho, out. 2011. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/937901/1/Sistemadeproducao leite.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2017.

CAMPOS FILHO, M. M. Como reduzir a comercialização do leite informal e melhorar a qualidade do leite no Brasil. **MilkPoint**. São Paulo, 14 set. 2001. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/artigos/espaco-aberto/como-reduzir-a-comercializacao-do-leite-informal-e-melhorar-a-qualidade-do-leite-no-brasil-8479n.aspx>>. Acesso em: 12 maio 2018.

CARSTENS, T. L. Doenças transmitidas por alimentos. Relatório (Estágio Curricular Obrigatório de Medicina Veterinária). Universidade Tuiuti do Paraná. Curitiba, 2006.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Estados Unidos, 114 p. 2013.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. ***E. coli (Escherichia coli): General Information***. Estados Unidos, 6 nov. 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>>. Acesso em: 28 nov. 2017.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. **The risks of raw milk**. Estados Unidos, 01 set. 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/foodsafety/rawmilk/raw-milk-questions-and-answers.html>>. Acesso em: 09 jun. 2018.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. **Foodborne Illnesses and Germs**. Estados Unidos, 16 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>>. Acesso em: 09 jun. 2018.

CHYE, F.; ABDULLAH, A.; AYOB, M. K. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. **Food Microbiology**. V. 21, p. 535-541, 2004.

CHEN, D.H.; FRANKEL, G. Enteropathogenic Escherichia coli: unravelling pathogenesis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, p. 83-98. 2004

COSTA, F. F. Interferência de práticas de manejo na qualidade microbiológica do leite produzido em propriedades rurais familiares. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Jaboticabal, jul. 2006.

DIAS, M. T.; SANTOS, P. C. R. F.; OLIVEIRA, L. A. T., MARIN, V. A. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 30, n. 2, p. 319-324, abr./jun. 2010.

EMATER - ENTIDADE AUTÁRQUICA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DE RONDÔNIA. Bovinocultura leiteira. **Bovinocultura de leite**. Porto Velho, 20 jul. 2016. Disponível em: <<http://www.emater.ro.gov.br/ematerro/bovinocultura-de-leite/>>. Acesso em: 16 out. 2017.

FAGUNDES, M. E. Conjuntura mensal especial: Leite e derivados. **CONAB**. Abr. 2017. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_05\\_15\\_14\\_13\\_38\\_leite\\_abril\\_2017.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_15_14_13_38_leite_abril_2017.pdf)>. Acesso em: 10 out. 2017.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial. 2000.

FONTANELI, R. S. Fatores que afetam a composição e as características físico-químicas do leite. 2001. 25 f. Seminário (Disciplina de Bioquímica do Tecido Animal) – Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2001. Ed. 1, 192 p.

GONZÁLEZ, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Passo Fundo, 2001. p. 5-22.

GONZÁLEZ, F. H. D.; NORO, G. Variações na composição do leite no subtropico brasileiro. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; PINTO, A.T.; ZANELLA, M.B.; FISCHER, V.; BONDAN, C. (Org.). **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtropico**. Passo Fundo: UPF Editora, 2011. p. 11-27.

GRIGOL, N. S.; SANTOS, A. F.; TEIXEIRA, B. F.; SANTOS, J. C. Custos trimestrais: Leite. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada**. Piracicaba, abr. 2017. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/revista/pdf/0302934001493736978.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2017.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotécologia**. Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE: Estatística da produção pecuária. 05 set. 2017. Disponível em:

<[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/abate-leite-couro-ovos\\_201702caderno.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201702caderno.pdf)>. Acesso em: 17 out. 2017.

IDF - INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **The Economic Importance of Dairying**. Feb. 2013. Disponível em: <<https://www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2016/04/The-economic-importance-of-dairying.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2018.

MADAPPA, T. *Escherichia coli* (E coli) Infections. **Medscape**. 18 maio 2017. Disponível: <<https://emedicine.medscape.com/article/217485-overview#a5>>. Acesso em: 28 nov. 2017.

MELO, B. A.; SANTOS, T. M. C.; BARBOSA, Y. R. S.; MOURA, C. T. R.; MONTALDO, Y. C. Aspectos microbiológicos de amostras de leite cru coletadas no município de Major Isidoro – Alagoas. **Revista Verde De Agroecologia E Desenvolvimento Sustentável**. Paraíba, v.5, n.5, p. 01-05, dez. 2010.

MILKPOINT RADAR. **Termômetro de mercado**. São Paulo, 04 out. 2017. Disponível em: <<https://www.milkpointradar.com.br/noticia/1/156/>>. Acesso em: 14 maio 2018.

NASCENTES, R. M.; ARAÚJO, B. C. Comparação da qualidade microbiológica de leite cru, pasteurizado e UHT comercializados na cidade de Patos de Minas, MG. **Perquirere**: revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão e da Pós-Graduação do Centro Universitário de Patos de Minas, Minas Gerais, v. 1, n. 9, p. 212-223, ago. 2012. Disponível em: <<http://perquirere.unipam.edu.br/documents/23456/55708/comparacao.pdf>> Acesso em: 05 set. 2017.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**. V. 11, p.142-201. 1998.

NORO, G. Síntese e secreção do leite. 2001. 21 f. Seminário (Disciplina de Bioquímica do Tecido Animal) – Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

OECD; FAO. **Agricultural Outlook 2017-2026**. Paris: OECD Publishing, jul. 2017. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2017-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en)>. Acesso em: 10 jun. 2018

OLIVEIRA, E. Nova Mamoré lidera produção leiteira em Rondônia. **EMATER**. Porto Velho, 10 jan. 2018. Disponível em: <<http://www.emater.ro.gov.br/ematerro/2018/01/10/nova-mamore-lidera-producao-leiteira-em-rondonia-2/>>. Acesso em: 12 maio 2018.

ORDÓNEZ, J. A. Microbiologia do leite. In:\_\_\_\_\_. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Artmed, 2005. p. 41-48.

PADILHA, M. R. F.; SHINOHARA, N. K. S.; SILVA, D. D.; SILVA, A. L. M.; LIMA, G. S. Qualidade dos alimentos no comércio informal de Camaragibe, Pernambuco.



**Revista Eletrônica “Diálogos Acadêmicos”**. São Paulo, v. 11, nº 2, p. 19-32, jul./dez. 2016.

PEREZ JUNIOR, F. Porcentagem de gordura, proteína e lactose em amostras de leite de tanques. 2002. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

PILA, J. Carta leite – Maiores laticínios do Brasil em 2016. Scot Consultoria. São Paulo, 24 abr. 2017. Disponível em: <<https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/cartas/45663/carta-leite-maiores-latic%C3%ADnios-do-brasil-em-2016.htm>>. Acesso em: 17 out. 2017.

PINTO, A. T. A venda direta de leite cru. **MilkPoint**. São Paulo, 16 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria/a-venda-direta-de-leite-cru-94411n.aspx>>. Acesso em: 13 maio 2018.

PONGELUPPE, A. T.; OLIVEIRA, D. B.; SILVA, E. A.; AGUILEIRA, K. K.; ZITEI, V.; BASTOS, M. F. Avaliação de coliformes totais, fecais em bebedouros localizados em uma instituição de ensino de Guarulhos. **Revista Saúde**. Guarulhos, v. 3, n. 2, 2009. Disponível em: <<http://revistas.ung.br/index.php/saude/article/view/257/475>>. Acesso em: 28 nov. 2017.

PORCIONATO, M. A. F.; REIS, C. B. M.; BARREIRO, J. R.; MORENO, J. F. G.; MESTIERI, L. Efeito da fervura, resfriamento ou congelamento na qualidade do leite cru. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba, v. 6, n. 4, p. 511-517, out./dez. 2008.

QUIGLEY, L.; O’SULLIVAN, O.; STANTON, C.; BERESFORD, T. P.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; COTTER, P. D. The complex microbiota of raw milk. **FEMS Microbiology Reviews**. V. 37, n. 5, p. 664-698, set. 2013.

REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., Ed. 12, p. 681-683. 2006.

ROCHA, K. L.; OLIVEIRA, A. P.; CARVALHO, J. W. P. Avaliação da qualidade do leite “in natura”, pasteurizado e esterilizado (UHT), comercializado em Barra do Bugres-MT. **Enciclopédia Biosfera**. Goiânia, v. 13, n. 23, p. 114-126, 2016.

RONDÔNIA. AGÊNCIA DE DEFESA SANITÁRIA AGROSILVOPASTORIL DO ESTADO DE RONDÔNIA. **Levantamento de dados sobre a produção de leite em Rondônia**. Porto Velho, 15 p., mar. 2013. Disponível em: <[http://www.idaron.ro.gov.br/Multimedia/downloads/docs/Producao\\_de\\_leite\\_em\\_Rondonia-divulgacao.pdf](http://www.idaron.ro.gov.br/Multimedia/downloads/docs/Producao_de_leite_em_Rondonia-divulgacao.pdf)>. Acesso em: 03 dez. 2017.

SÁ, O. R.; FRANÇA, N.; ESPER, K. C. P.; PEREIRA, K. C.; SOUZA, N. C.; SILVA, T. M. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado produzido em propriedades leiteiras do município de Passos e região. **Ciência Et Praxis**. Minas Gerais, v. 4, n. 8, 2011.

SAEKI, E. K.; MATSUMOTO, L. S. Contagem de mesófilos e psicrotróficos em amostras de leite pasteurizado e UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Minas Gerais, v. 65, n. 377, p. 29-35, nov./dez. 2010.

SANTANA, E. H. W. Pasteurização: qual a importância deste processo para o leite? **Milkpoint**. São Paulo, 07 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/microbiologia/pasteurizacao-qual-a-importancia-deste-processo-para-o-leite-94246n.aspx>>. Acesso em: 18 out. 2017.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MORAES, L. B.; GUSMÃO, V. V.; PEREIRA, M. S. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 145-154, jul./dez. 2001.

SANTOS, A. C. M.; PIGNATARI, A. C. C.; SILVA, R. M.; ZIDKO, A. C. M.; GALES, A. C. A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. **O Mundo Saúde**. São Paulo, v. 33, n. 4, p. 392-400, 9 set. 2009.

SANTOS, L. O. Comércio informal: perfil socioeconômico dos trabalhadores de rua, no centro de Buriticupu – MA. Monografia (Licenciatura em Geografia). Universidade Federal do Maranhão. Buriticupu, 2015.

SEBRAE - Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas em Rondônia. **Diagnóstico do Agronegócio do Leite e Derivados do Estado de Rondônia**. Ed.1. Porto Velho, 2015. 336 p.

SEBRAE. Evolução da cadeia do leite em Rondônia. **Agronegócio**. Porto Velho, 28 jan. 2016. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ufs/ro/artigos/evolucao-da-cadeia-do-leite-em-rondonia,d7d44ae2e9282510VgnVCM1000004c00210aRCRD>>. Acesso em: 16 out. 2017.

SILVA, M. C. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema SimPlate. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, maio 2002.

SILVEIRA, M. L. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **Revista Visa em Debate**. Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p. 75-80, 2014.

SIQUEIRA, A. K.; ALVES, T. S.; FERRAZ, M. M. G.; FRANCO, M. M. J.; MOTTA, R. G., LISTONI, F. J. P.; SILVA, A. V.; RIBEIRO, M. G.; LEITE, D. S. Resistência antimicrobiana em coliformes totais isolados de tanques de refrigeração de leite bovino. **Atas de Saúde Ambiental**. São Paulo, v. 2, n. 3, p. 2-15, set/dez. 2014.

SOARES, F. A. C. Composição do leite: Fatores que alteram a qualidade química. 2013. 7 f. Seminário (Disciplina de Bioquímica do Tecido Animal) - Programa de Pós

Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

SOUSA, D. D. P. Consumo de produtos lácteos informais, um perigo para saúde pública. Estudo dos fatores relacionados a esse consumo no município de Jacareí – SP. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

SOUZA, C. O.; MELO, T. R. B.; MELO, C. S. B.; MENEZES, E. M.; CARVALHO, A. C.; MONTEIRO, L. C. R. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. Ananindeua, v. 7, n. 2, jun. 2016.

TAMIME, A. Y. **Milk Processing and Quality Management**. United Kingdom: Wiley-Blackwell, Ed. 1, 343 p. 2009.

VALSECHI, O. A. O leite e seus derivados. **Tecnologia de Produtos Agrícolas de Origem Animal**. Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2001. 36 p.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche y productos lácteos: Tecnología, química y microbiología**. Tradução de Rosa Oria Almudí. Espanha: Acribia, S.A., 1995. 476 p.

VILELA, D.; RESENDE, J. C.; LEITE, J. B.; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n. 1, p. 5-24, jan./mar. 2017.

WATTIAUX, M. A. Composição do leite e seu valor nutricional. **Dairy Equipamentos**, Curitiba, 07 mar. 2014. Disponível em: <<http://dairy.com.br/composicao-do-leite-e-seu-valor-nutricional/>>. Acesso em: 23 out. 2017.

ZAFALON, M. Importação de leite no Brasil cresce 76% no trimestre. **Jornal Folha de São Paulo**. São Paulo, 11 abr. 2017. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/colunas/vaivem/2017/04/1874417-importacao-de-leite-para-o-brasil-cresce-76-no-trimestre.shtml>>. Acesso em: 16 out. 2017.

ZOCCAL, R. Dez países top no leite. **Revista Balde Branco**. São Paulo, 17 abr. 2017. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/dez-paises-top-no-leite/>>. Acesso em: 10 out. 2017.

ZOCCAL, R. Alguns números do leite. **Revista Balde Branco**. São Paulo, 13 set. 2016. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/alguns-numeros-do-leite/>>. Acesso em: 10 out. 2017.

ZOCCAL, R. Mercado de lácteos no Brasil: produção, importação e exportação. **Revista Balde Branco**. São Paulo, 18 jul. 2017. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/mercado-de-lacteos-no-brasil-producao-importacao-e-exportacao/>>. Acesso em: 04 dez. 2017.