

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
Campus ROLIM DE MOURA

FERNANDA DOS SANTOS CANDIDO

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU DE TANQUES
REFRIGERADOS DO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA- RO

ROLIM DE MOURA - RO
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
Campus ROLIM DE MOURA

FERNANDA DOS SANTOS CANDIDO

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU DE TANQUES
REFRIGERADOS DO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA- RO

Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Rondônia, *campus* Rolim de Moura, como quesito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Professor Dr. Igor Mansur Muniz.

ROLIM DE MOURA

2019

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

C217a Candido, Fernanda dos Santos.

Análise microbiológica de leite cru de tanques refrigerados do município de Rolim de Moura- RO / Fernanda dos Santos Candido. – Rolim de Moura, RO, 2019.

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 cru. 2. Coliformes totais. 3. Coliformes termotolerantes. 4.
Escherichia coli. I. Muniz, Igor Mansur. II. Título.

CDU 636.2.084

Bibliotecário(a) Nágila N. Chaves

CRB 6/363

FERNANDA DOS SANTOS CANDIDO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU DE TANQUES REFRIGERADOS
DO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA- RO**

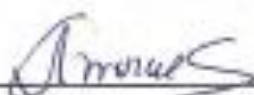
Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Rondônia, campus Rolim de Moura, como quesito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Rolim de Moura, 04 de Julho de 2019

BANCA EXAMINADORA



Professor Dr. Igor Mansur Muniz
Universidade Federal de Rondônia



Professora Dra. Alessandra Cristina de Moraes
Universidade Federal de Rondônia



Professor Dr. Elvino Ferreira
Universidade Federal de Rondônia

“Somos o que repetidamente fazemos.
A excelência, portanto, não é um feito, mas um hábito”.

(Aristóteles)

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia e o socorro presente na hora da angústia.

Aos meu pais João Batista Candido e Edna Francisco dos Santos Candido por serem meu porto seguro, por me motivarem a ser tudo que sou, por todos seus esforços e por sempre me apoiarem em todas as minhas decisões e me ampararem nos momentos de aflição ao longo da minha vida.

Aos meus irmãos José Antônio Candido e Tattiely Cristina Nunes Constâncio que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao meu orientador Prof^o. Dr^o. Igor Mansur Muniz, por ter abraçado a ideia da pesquisa, por todos os ensinamentos, paciência, incentivos e dedicação.

Ao grupo Italac por financiar e acreditar na pesquisa, em busca de uma maior qualidade dos seus produtos pensando sempre em seus consumidores.

Ao supervisor técnico do Italac, Manuel Pereira Silva, por ser a “ponte” até a empresa e não medir esforços para que a pesquisa desse certo.

Aos produtores, por abrirem as portas de suas propriedades permitindo assim que este estudo pudesse ser desenvolvido.

Ao meu namorado, Matheus Vitor Vieira Andrade, pela paciência e compreensão, por estar comigo em todos os momentos e por quem busco ser uma pessoa melhor.

Aos meus avós paternos Antônio Candido Neto e Serafina Elvira Scoparo Candido, “*In Memoriam*” e maternos José Francisco dos Santos e Nair Françolin dos Santos pela existência de meus pais pois sem eles este trabalho e muitos dos meus sonhos não se realizariam.

As minhas amigas, Mariana Moreira dos Anjos e Juliana Sales Fernandes, por serem anjos na minha vida estarem comigo em todos os momentos.

Aos meus amigos, Jéssica Lorryne Hammer Araújo, Lilian Soares Schiavon e Gian Phablo Nunes Cabral e Maria Isabel Moraes por independente da distância, se

fazerem presentes, me apoiarem nos momentos difíceis e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus amigos Anderson Fernandes Soffa, André Luiz Andrelino Silva, Dominique de Oliveira Cavalcante, Ingrid Letícia Pereira de Freitas, Ivair Petrônio Alves Santos, João Mikalzenzen Junior, Junior Henrique da Silva Moreira, Leidiane Maximiano de Cerqueira, Lorryne de Oliveira Rodrigues, Maxsiele Vieira da Silva e Taísa Fernanda Conceição Santos pelo companheirismo e por tornar a vida acadêmica mais prazerosa durante os cinco anos, amizades que levarei comigo no coração por onde for.

Ao professor Raul Dirceu Pazdiora que ao longo desses cinco anos me orientou, com carinho e paciência e como resultado o surgimento de uma bonita amizade que levarei ao longo da vida.

A Fundação Universidade Federal de Rondônia – campus Rolim de Moura, pela oportunidade de transformação que tive tanto científica profissional quanto pessoal ao longo desses cinco anos.

Ao departamento do curso de Medicina Veterinária da Fundação Universidade Federal de Rondônia, e às pessoas com quem convivi nesses espaços aos longo desses anos.

A experiência de uma produção compartilhada na comunhão com amigos nesses espaços foram a melhor experiência da minha formação acadêmica.

À banca pela disponibilidade.

RESUMO

O leite, produzido e beneficiado em propriedades leiteiras, possui padrões de qualidade específicos. Por ser um alimento rico em gordura, açúcar e, principalmente, água, o leite é um ambiente propício para o crescimento bacteriano. Visando o padrão de qualidade Italc Alimentos, onde seus produtos estão em mais de vinte mil pontos de vendas no país e em prol da comunidade em parceria com a universidade foi avaliado a qualidade da matéria prima que chega direto do produtor na indústria, um estudo quanto a presença de bactérias potencialmente patogênicas, os coliformes totais e termotolerantes, que são veiculados até mesmo pela água, sendo a *Escherichia coli* o principal coliforme termotolerante. O objetivo desse trabalho foi analisar a qualidade microbiológica do leite cru em 27 tanques entre ordenha manual e ordenha mecânica em propriedades rurais dentro do município de Rolim de Moura - RO. As amostras foram coletadas e transportadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia-campus Rolim de Moura, onde foram diluídas e analisadas pelo método do número mais provável (NMP). Os resultados revelaram que 100% das amostras foram positivas para coliformes totais e 60% para coliformes termotolerantes. Havendo diferença significativa entre os tipos de ordenha, onde dentro das amostras de ordenha mecânica 50% deram negativas para *E. coli*, nas de ordenha manuais apenas 17,64% deram negativas, evidenciando a necessidade de um maior controle de qualidade e orientação ao produtor sobre melhores técnicas de higiene.

Palavras-chave: Leite cru, Coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The milk, produced and processed in dairy properties, has specific quality standards. Because milk is a food rich in fat, sugar and, especially, water, it is a favorable environment for bacterial growth. Aiming at the quality standard Italcac Alimentos, where its products are in more than twenty thousand points of sale in the country and in favor of the community in partnership with the university it was evaluated the quality of the raw material that arrives from the producer in the industry, a study about the presence of potentially pathogenic bacteria, the total coliforms and thermotolerants, which are transmitted even through the water, being *Escherichia coli* the main thermotolerant coliform. The objective of this study was to analyze the microbiological quality of raw milk in 27 tanks between manual and mechanical milking in rural properties in the city of Rolim de Moura - RO. The samples were collected and transported to the Microbiology Laboratory of the Federal University of Rondônia-Campus Rolim de Moura, where they were diluted and analyzed by the most probable number method (MPN). The results revealed that 100% of the samples were positive for total coliforms and 60% for thermo-tolerant coliforms. There was a significant difference between the types of milking, where within the samples of mechanical milking 50% were negative for *E. coli*, in the manual milking only 17.64% were negative, showing the need for greater quality control and guidance to the producer on better hygiene techniques.

Key words: Raw milk, Total and thermotolerant coliforms, *Escherichia coli*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Evolução da produção de leite brasileira em milhões de litros.....	18
Figura 02 - Amostras positivas inoculadas no Caldo Lactosado nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	32
Figura 03 - Amostras positivas inoculadas no caldo verde brilhante nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	32
Figura 04 - Amostras inoculadas no Caldo <i>Escherichia coli</i> (EC) a esquerda e a direita placas Ágar Eosina Azul de Metileno positivas das amostras dez 10^{-1} e treze 10^{-2} para <i>Escherichia coli</i>	33
Figura 05 - Aferição do pH.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Principais componentes do leite bovino	22
Tabela 02 - Características das propriedades analisadas.....	34
Tabela 03 - Resultados encontrados de coliformes totais e termotolerantes	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Incidência de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> nas amostras de ordenha manual	36
Gráfico 02 - Incidência de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> nas amostras de ordenha mecânica.....	37
Gráfico 03 - Incidência de coliformes totais nas amostras de ordenha manual e mecânica.....	37
Gráfico 04 - Incidência de coliformes termotolerantes (<i>Escherichia coli</i>) nas amostras de ordenha manual e mecânica.	38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- APHA** – Associação Americana de Saúde Pública
- β-lactamase** - Betalactamases
- CEPEA** – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
- DAEC** – *E. coli* aderente difusa
- EAEC** – *E. coli* enteroagregativa
- EC** – Caldo *Escherichia coli*
- EFSA** – European Food Safety Authority
- EHEC** – *E. coli* enterohemorrágica
- EIEC** – *E. coli* enteroinvasora
- EMB** – Ágar Eosina Azul de Metileno
- EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- EPEC** – *E. coli* enteropatogênica
- ETEC** – *E. coli* enterotoxigênica
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- MAPA** – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- NMP** – Número mais provável
- PNMQL** – Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
- RMF** - Resíduo mineral fixo
- STEC** – *E. coli* produtora da toxina de Shiga
- VB** – Caldo Verde Brilhante Bile Lactose 2%

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Panorama Mundial	16
3.2 Panorama nacional.....	17
3.3 Panorama estadual	19
3.4 O leite dentro do agronegócio	20
3.5 Composição do leite	21
3.5.1 A água	22
3.5.2 Os sólidos totais	22
3.5.3 A gordura.....	23
3.5.4 As proteínas	23
3.5.5 A lactose.....	24
3.5.6 Os minerais	24
3.6 Qualidade microbiológica	25
3.7 Qualidade de higiene de tanques de refrigeração	26
3.8 Coliformes totais e termotolerantes	27
3.9 <i>Escherichia coli</i>	28
3.10 pH.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Área e período de estudo	31
4.2 Coleta das amostras.....	31
4.3 Processamento das amostras	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	41
7. REFERÊNCIAS.....	42

1. INTRODUÇÃO

Leite é o líquido branco originado pelas glândulas mamárias das fêmeas dos mamíferos, que alimentam suas crias nas primeiras fases do desenvolvimento. O leite de vaca é o mais comum dentro da dieta humana, porém também há o consumo de leite de ovelha, cabra e outros animais. O processo de obtenção do leite de animais domésticos e semidomesticados é conhecido por ordenha.

O ser humano é o único mamífero que consome leite durante toda a sua vida. O leite materno é essencial para o crescimento e desenvolvimento orgânico e funcional, sendo rico em gorduras, vitaminas e minerais essenciais para o desenvolvimento do sistema imunológico. Ao longo do tempo, o leite continua fazendo parte na alimentação do homem, mas em quantidades menores.

O Brasil vem aumentando consideravelmente sua produção leiteira. Crescendo 54% no período de 2003 a 2013, com uma produção de aproximadamente de 35 mil/litros (IBGE, 2016).

Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (2016), órgão da ONU, aproximadamente 150 milhões de famílias em todo o mundo estão envolvidos na atividade leiteira. Ela está presente na maioria dos países em desenvolvimento e a produção a partir de pequenos produtores, na agricultura familiar, pois tem retorno financeiro rápido.

Com isso, vêm sendo desenvolvidas campanhas para incentivar o consumo de produtos lácteos, destacando os benefícios do leite para a saúde, dos quais, o mais importante é o fato do leite ser fonte de cálcio, mineral fundamental para boa formação dos ossos. Além do cálcio o leite também possui vitaminas, proteínas, potássio, aminoácidos e fósforo. A oferta de nutrientes no leite, sua concentração alta de água e seu pH neutro torna-o meio extremamente favorável ao crescimento e desenvolvimento microbiano.

A qualidade microbiológica do leite pode ser comprometida devido às condições de higiene durante a ordenha, do processo tecnológico e até mesmo as condições climáticas da região, dentre outros fatores. A higienização dos tetos antes da ordenha contribui para melhorar a qualidade do leite e prevenir e controlar as infecções da glândula mamária.

A melhor condição de produção, obtenção, estocagem, transporte e acondicionamento nas plantas de processamento são etapas fundamentais para garantir a qualidade do leite e de seus derivados (CERQUEIRA et al., 2015).

A estocagem do leite cru refrigerado na fonte de produção iniciou-se no Brasil, na década de 90, sendo regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002, retificada pela Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, que determinava as normas na produção, identidade e qualidade de leites pasteurizado e cru refrigerados, além de regulamentar a coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel (BRASIL, 2002; BRASIL, 2011).

Atualmente foi lançada a Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018, que regulamenta e fixa a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, juntamente com a Instrução Normativa nº 77/2018, onde são definidos critérios para obtenção de leite de qualidade e seguro ao consumidor e que englobam desde a organização da propriedade, suas instalações e equipamentos.

A qualidade do produto final está diretamente relacionada à carga microbiológica do leite ao chegar à indústria beneficiadora (GUERREIRO et al., 2005). A prática de boa higiene reduz perdas econômicas por atividade acidificante de bactérias mesófilas e psicotróficas relacionadas a problemas tecnológicos e econômicos na indústria de laticínios (FONSECA; SANTOS, 2000).

Italac é uma das principais indústrias do setor lácteo do país, onde seus produtos chegam a mais de vinte mil pontos de vendas, entre varejistas, atacadistas e distribuidores. A fim de melhorar a qualidade do leite recebido de produtores rurais, visando o padrão de qualidade dos produtos, realizou-se uma parceria com a universidade para avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado de tanques do município Rolim de Moura - RO.

Uma parceria em prol do benefício comunitário, visando desde levar informação ao produtor para que este possa fornecer um produto *in natura* de melhor qualidade a indústria atingindo diretamente o consumidor final.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade microbiológica através da presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes do leite cru refrigerado de tanques pertencentes ao grupo Italac do município de Rolim de Moura – RO.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar pontos para a melhoria da qualidade do leite cru a fim de instruir o pequeno produtor com pouco acesso à informação.
- Comparar a qualidade do leite cru entre tanques de ordenha mecânica em relação aos tanques ordenha manual.
- Avaliar a presença de coliformes totais e termotolerantes.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Panorama Mundial

A produção mundial de leite de vaca em 2015 foi de 656 mil toneladas, e os países Estados Unidos, Índia, China, Brasil, Alemanha, Rússia, França, Nova Zelândia, Turquia e Reino Unido produziram 374 mil toneladas, o que representa 57% do total. Os Estados Unidos lideram o ranking, com 93,5 mil toneladas por ano, com um rebanho de 9,2 milhões de cabeças e a nível mundial o maior índice de produtividade média por vaca, 10.150 litros (FAO, 2016).

A participação de cooperativas em países com elevada produção de leite merece destaque. Por exemplo, na Nova Zelândia as cooperativas chegam a participar em 95% na produção e nos Estados Unidos da América em 83% (SCHUBERT et al., 2009).

O continente asiático vem apresentando crescimento exponencial desde a década de 70, sendo considerado como “potência” da produção leiteira. Entre o período de 2000 e 2015, a China foi o país que aumentou de forma exponencial a sua produção, tendo um aumento de 335%, seguido pela Índia com 101% e Turquia com 94% (ZOCCAL, 2017).

É importante também frisar a crescente participação de outros países como a Nova Zelândia, Uruguai e Argentina no mercado leiteiro (CORRÊA et al., 2010). De acordo com estimativas a produção de leite aumentará em 10% até 2026 nos países desenvolvidos e em países em desenvolvimento cerca de 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 (FAO, 2016).

Em 2030 a população do mundo alcançara 9 bilhões de pessoas, 16% a mais que hoje. Portanto, tendo 1,5 bilhões de potenciais consumidores de lácteos a mais, além disso, o consumo per capita deverá crescer também 16%. Estimativas afirmam que seis bilhões de pessoas no mundo consomem leite e produtos lácteos de várias espécies domesticadas, sendo a maior parte, pessoas em países em desenvolvimento aproximadamente 25 kg per capita/ano, porém mesmo assim esses países permanecem com o consumo médio menor do que os países desenvolvidos que é

300 kg per capita por ano, mas o aumento do consumo é crescente (SEBRAE, 2015).

3.2 Panorama nacional

O Brasil é o sexto maior produtor de leite nível internacional, estando atrás apenas da Índia, Estados Unidos da América, China e Paquistão (FAO, 2016).

De 1974 a 2014, a nossa produção quase quadruplicou, dando um salto de 7,1 bilhões para mais de 35,1 bilhões de litros de leite, porém em 2015, por dois anos consecutivos a produção caiu, só voltando a registrar crescimento em 2017 onde chegou a superar o período de queda anteriormente observado (IBGE, 2018).

Mesmo sendo importador de uma grande quantidade de produtos lácteos, nosso País abriga um dos maiores rebanhos produtivos do mundo, com 23 milhões de cabeças, ficando atrás apenas da Índia. Entre os períodos de 2000 a 2015, a produção cresceu 72,3%; o rebanho aumentou 28,7% e a produtividade, 33,8%, entretanto ainda é baixa, de 1.525 litros/vaca/ano, uma das menores médias entre os principais países produtores de leite. Os sistemas comuns variam entre 23 e 320 animais em lactação. É um setor importante no agronegócio brasileiro empregando mais de 2 milhões de pessoas (ZOCCAL, 2016).

No Brasil, o leite é um dos principais produtos agropecuários, devido à sua alta produção, comercialização e consumo. A grande importância deste alimento está relacionada ao seu valor econômico e nutricional, pois, além de gerar empregos e renda, o leite possui um importante papel dentro da alimentação humana sendo recomendado em todas as fases da vida, principalmente para atingir a adequada quantidade diária de cálcio, nutriente fundamental para a formação e manutenção da estrutura óssea e também outras funções no organismo (MARTINS et al., 2016).

O leite é um dos seis produtos mais importantes da agropecuária nacional, sendo essencial no suprimento da alimentação brasileira e na geração de emprego e renda para a população (EMBRAPA, 2016). Souza et al. (2009) e Corrêa et al. (2010) afirmaram que desde a década de 90, a atividade leiteira vem passando por grandes transformações no nosso país, buscando tornar-se competitivo e inovador no mercado global, focando na produção em escala com qualidade, agregação de valor e industrialização de produtos diferenciados.

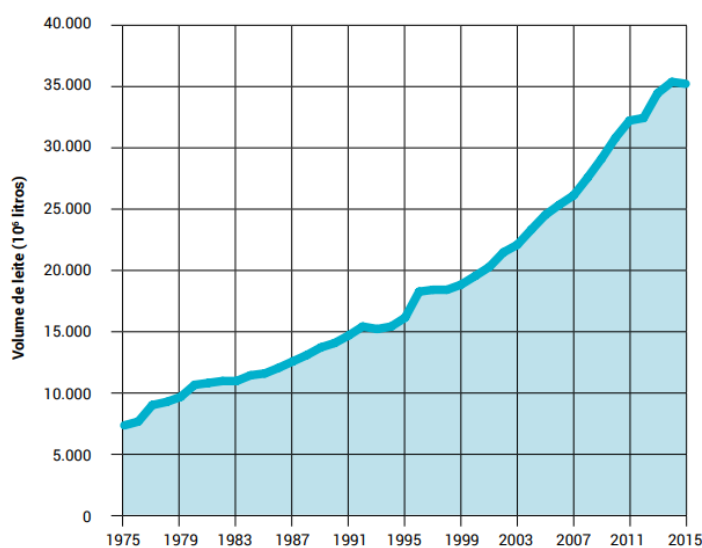
Conforme mostra o levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) referente ao ano de 2014 (figura 01), a produção leiteira alcançou à marca de 35,17 bilhões de litros, sendo a região Sul a número um em maior produção do país, representando 34,7% do total nacional. Durante o mesmo período, o Estado de Minas Gerais permaneceu como maior produtor Brasileiro, seguido do Rio Grande do Sul e Paraná.

Como uma característica peculiar, a produção leiteira nacional conta com grande diversidade estrutural. A heterogeneidade é observada tanto nos sistemas de produção quanto nos aspectos ligados a alimentação do rebanho e qualidade do leite (SOUZA et al., 2009; CORRÊA et al., 2010).

Conforme Oliveira et al. (2007), a alta diferença socioeconômica, cultural e climática que caracteriza os sistemas de produção geram a necessidades de os estudos serem regionais sobre a produção leiteira, também pelo fato de que a pecuária desse segmento está presente em mais de 80% dos municípios brasileiros.

A cadeia produtiva leiteira de base familiar mostra-se com futuro promissor, levando em conta as previsões de que o Brasil apresente crescimento nesse setor, e também a capacidade de rápida adaptação e reconversão produtiva desse sistema (SCHUBERT et al., 2009).

Figura 01 - Evolução da produção de leite brasileira em milhões de litros



Fonte: IBGE (2015).

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 é estimada em 16,11 bilhões de litros por ano dessas indústrias (PILA, 2017).

Analisando o consumo, a partir de 2009 houve um perceptível aumento, 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, como queijos e iogurtes, nos últimos anos vem registrado queda devido a redução da renda real (VILELA et al., 2017).

3.3 Panorama estadual

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

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

Rondônia conta com um rebanho bovino de 13.397.970 cabeças, sendo 3.706.705 cabeças de bovinos leiteiros, distribuídos em 31.743 propriedades, com 80% de pequenas propriedades tendo a agricultura familiar como a principal fonte de renda (EMATER, 2016).

Do ponto de vista biológico, o leite é considerado um dos alimentos mais completos por apresentar em sua composição, alto teor de proteínas e sais minerais. Também sendo considerado meio de cultura rico, podendo ser facilmente contaminado por muitos e vários grupos de microrganismos que podem encontrar todas as condições favoráveis de multiplicação (BORGES et al., 1989).

3.4 O leite dentro do agronegócio

A importância do leite dentro do agronegócio para o Brasil está ligada à sua capacidade de gerar empregos e renda, no qual o mesmo deixou de ser apenas um produtor de alimentos *in natura*, para ser uma atividade agropecuária integrada aos setores industriais e de serviços (PADILHA, 2003).

O agronegócio é compreendido como a soma de quatro segmentos: insumos para a agropecuária, produção agropecuária básica, agroindústria e distribuição. O agronegócio vem se consolidando como um dos principais propulsores da economia nacional, com significativas participações nas exportações e no Produto Interno Bruto (CEPEA, 2012).

Conforme dados do centro de estudos avançados em economia aplicada o agronegócio foi responsável 22,54 % do PIB nacional em 2013 (CEPEA, 2013).

A atividade leiteira é de grande importância para o agronegócio brasileiro, visto que atualmente o Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com aproximadamente 200 milhões de cabeças, a Índia mantém a primeira colocação, embora seu rebanho não seja comercial em grande parte do território (MAPA, 2014).

A pecuária no Brasil pode ser caracterizada por sua diversidade, não apenas no que refere às raças, mas também aos sistemas de criação (MARTINS, 2006).

O leite no agronegócio possui um espaço de destaque dentro da economia mundial. Este sistema é um dos mais expressivos do Brasil pela sua importância social, e a atividade leiteira é praticada em todo país, em cerca de um milhão de propriedades rurais. Gera mais de três milhões de empregos diretos na produção primária e agrega mais de seis bilhões de reais ao valor da produção agropecuária nacional (MULLER, 2002).

O leite está entre os seis produtos mais importantes da agropecuária brasileira, ficando à frente de produtos tradicionais como café beneficiado e arroz. O agronegócio do leite e seus derivados desempenham um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população (COSTA, 2009).

Os números reafirmam a importância do agronegócio e da produção de leite

para o País, onde o Ministério do Trabalho e Emprego, em junho/2017, apontou a expansão de postos de trabalho do emprego formal. O saldo foi positivo, em postos gerados na agropecuária, de 117 mil. Os estados que mais empregaram foram Minas Gerais, Mato Grosso e Pernambuco. O leite representa 24% do valor bruto da produção (VBP) gerado pela pecuária, sendo apenas inferior ao da carne bovina e superior por exemplo ao valor da produção de frangos, suínos e ovos (EMBRAPA, 2006).

Costa (2005), ressaltou que a Organização Mundial de Saúde recomenda o consumo diário mínimo de 500 mililitros de leite por dia pelo adulto e no mínimo de um litro durante a adolescência e terceira idade. Entretanto, no Brasil, o consumo médio do produto per capita é inferior a um copo diário, cerca de 170mL.

3.5 Composição do leite

O leite é um alimento rico em nutrientes como proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais. Sua composição varia em função de vários fatores como, espécie, fase de lactação, época do ano e alimentação da lactante (GUERREIRO et al., 2005).

O leite é composto por mais de cem mil tipos de moléculas, que proporcionam nutrientes e proteção imunológica ao neonato. O conhecimento da composição do leite é de importância 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 (GONZALES; NORO, 2011).

Segundo a Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011 entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, enquanto que o leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (BRASIL, 2011).

A composição percentual média do leite de vaca de diversas raças europeias é: 87% de água, 4,4% de gordura, 4,6% de lactose, 3,3% de caseína e proteínas do soro, 0,7% de minerais, 0,17% de sais e 0,13% de vitaminas e enzimas (tabela 01). O

leite é considerado um importante alimento para os seres humanos, por ter proteínas, gordura, cálcio e vitaminas do complexo B (PEREZ JUNIOR, 2002).

Tabela 1 - Principais componentes do leite bovino.

Componente	Percentual no leite
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)

3.5.1 A água

A água é o constituinte quantitativo de maior importância, no qual estão dissolvidos, dispersos ou emulsionados os demais componentes. A maior parte encontra-se como água livre, embora haja água ligada a outros componentes, como proteínas, lactose e substâncias minerais (SILVA, 1997).

3.5.2 Os sólidos totais

A água é o componente que entra em maior proporção na composição do leite, e com a exclusão dela, os demais componentes constituem a fração denominada sólidos totais, ou extrato seco do leite. Esta fração, divide-se em gorduras, e sólidos não-gordurosos (OLIVEIRA; CARUSO, 1996).

Segundo Edwards e Parker (1994), o potencial genético para produção de sólidos totais na Nova Zelândia, é consideravelmente sub explorado, sob as atuais condições de alimentação das vacas leiteiras.

No Brasil, há pouca pesquisa a esse respeito. Pesquisas recentes apontam que pode haver correlação do ponto crioscópico com o rendimento industrial para fabricação de derivados lácteos, uma vez que a crioscopia ou ponto de congelamento, estaria associada ao teor de sólidos do leite (FONSECA, 2001).

3.5.3 A gordura

Os triglicerídeos são produzidos e secretados pelas células epiteliais mamárias na forma de glóbulos gordurosos, e estão circundados de uma dupla camada lipídica (SOARES, 2013).

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

3.5.4 As proteínas

O leite bovino contém vários compostos nitrogenados, dos quais aproximadamente 95% ocorrem como proteínas e 5% como compostos nitrogenados não-proteicos (SILVA, 1997). Das proteínas do leite, as três principais são a caseína (85%), a lactoalbumina e a lactoglobulina (SOARES, 2013).

A maioria das proteínas são sintetizadas na glândula mamária, com exceção da albumina bovina e imunoglobulinas, formadas no sangue e transferidas para o leite (PEREZ JUNIOR, 2002).

Todas elas formam grânulos insolúveis denominadas 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 de extrema importância para a fabricação de derivados não fluidos do leite (GONZÁLEZ, 2001).

A proteína é um dos componentes que mais varia devido a fatores ambientais, inclusive com a nutrição. Geralmente, quando há aumento de proteína no leite, há um aumento na produção total, o que não ocorre com a gordura (SOARES, 2013).

3.5.5 A lactose

Os açúcares do leite são essencialmente constituídos pela lactose, cujo o teor varia entre 4,5 a 5,0g/L, responsável pelo sabor adocicado do leite. A lactose é um dos açúcares menos solúveis, com uma solubilidade em água de apenas 17,8% a 25°C (VALSECHI, 2001).

Esta baixa solubilidade tem resultados durante a elaboração do leite concentrado e produtos lácteos congelados (VARNAM; SUTHERLAND, 1995). Tem uma relação muito estreita com a água, pois possui um fator osmótico de 50%, sendo responsável pela entrada de água para as células epiteliais mamária na síntese do leite, tornando o elemento que menos varia devido os 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 geralmente é usada para enriquecer os leites modificados e na fabricação de farinhas lácteas destinadas a alimentação do homem (VALSECHI, 2001).

3.5.6 Os minerais

A concentração de minerais no leite está relacionada 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). 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, porém outros minerais são encontrados no leite como o bicarbonato, magnésio, potássio e sódio (GONZÁLEZ, 2001).

Os fatores que levam a variação da composição do leite são: fatores genéticos; estágio da lactação; status de saúde da vaca e fatores ambientais (TAMIME, 2009).

Sabidamente, o leite é uma rica fonte de cálcio, a maior porcentagem desse cálcio está ligada ao fosfato de cálcio, que é fundamental, mantendo a integridade das micelas de caseína (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

3.6 Qualidade microbiológica

A qualidade microbiológica do leite é um termo muito amplo e genérico. Os principais microrganismos envolvidos com a contaminação do leite são bactérias, vírus, fungos e leveduras. Com relação às bactérias, o leite pode proporcionar o desenvolvimento de dois grandes grupos: os mesófilos e os psicotróficos. Os mesófilos são os microrganismos capazes de se multiplicar em temperaturas ótimas na faixa de 30- 45°C e os psicotróficos próximo a 25-30°C. Esses grupos podem ser termodúricos, resistindo à pasteurização (FONSECA, 2000).

A contaminação do leite por microrganismos apresenta várias origens, portanto deve-se evitar a contaminação. Sabendo-se que é praticamente impossível extrair um leite inócuo, devido ao próprio úbere da vaca que tem uma microbiota e é de fácil contaminação pelos microrganismos do meio ambiente que penetram no canal galactóforo, é preciso evitar ao máximo a contaminação do leite após a ordenha (BEHMER, 1999).

Segundo De Buyser et al. (2001), é difícil estimar a proporção de doenças transmitidas por leite e derivados, devido às limitações dos sistemas de vigilância. Na França, o leite e os seus derivados estiveram envolvidos em 5% dos 3.839 surtos de doenças transmitidas por alimentos de origem bacteriana entre 1988 e 1997. Neste país, dos 60 surtos relatados, 48% foram relacionados ao leite cru.

O controle da qualidade, das características físico-química e microbiológicas do leite cru que chega à plataforma da indústria de laticínio é fundamental para se garantir um produto final de qualidade para o consumidor (TRONCO, 2008).

Com o objetivo de melhorar a qualidade do leite o governo instituiu o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), que são normas técnicas para regulamentar as exigências mínimas da qualidade do leite a ser fornecido aos laticínios.

O tipo de microrganismos que provém dessas fontes é muito variável: esporos (solo, ar, camas, silo, etc.), coliformes (esterco, camas, água, etc.), estreptococos fecais (esterco, águas), micrococos (pelos, ar), bactérias psicotróficas (camas, forragem, água), bactérias lácticas (alimentos verdes), patógenos (do animal, da

pessoa que ordenha) entre outros (ORDÓNEZ, 2005).

3.7 Qualidade de higiene de tanques de refrigeração

Durante o processo de produção, elaboração, transporte, armazenamento e distribuição, qualquer alimento está sujeito à contaminação por substâncias tóxicas ou por bactérias patogênicas, vírus e parasitos. O leite, devido à sua riqueza nutritiva, constitui um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de diversos microrganismos, sendo veículo de transmissão de importantes zoonoses para o homem (FRAZIER, 1993).

A qualidade do leite cru é influenciada por múltiplos fatores, entre os quais destacam-se os zootécnicos, associados ao manejo, saúde da glândula mamária, alimentação e potencial genético dos rebanhos, e outros fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite recém-ordenhado. Os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e higiênicos sanitários são utilizados pelas indústrias para verificar e determinar a qualidade do leite, como por exemplo, a contagem de células somáticas, a contagem de microrganismos psicotróficos e resíduos de antibióticos que estão sendo cada vez mais exigidos como parâmetros de qualidade (SANTOS; FONSECA, 2001).

No Brasil, de modo geral, o leite é obtido sob condições higiênico-sanitárias precárias, e em consequência, apresenta elevados números de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico (CERQUEIRA, 1995).

Em relação ao leite e seus derivados, os cuidados higiênicos para evitar a contaminação devem ser iniciados desde a ordenha e continuados até a obtenção do produto final. Diversos microrganismos patogênicos podem ser encontrados contaminando o leite, dentre eles podem-se destacar *Escherichia coli* e *L. monocytogenes* (ROCOURT, 1983).

A higienização correta dos tetos da vaca e seu estado de saúde, o ambiente da sala de descanso e da sala de ordenha, além dos procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha, tanque de refrigeração e utensílios que

entram em contato com o leite, são extremamente importantes à contaminação microbiana do leite cru (FONSECA, 2000).

A contaminação microbiana interfere na qualidade do leite, sendo prejudicial a industrialização, reduzindo o tempo de prateleira do leite fluido e derivados lácteos, além de colocar em risco a saúde do consumidor (ORDÓNEZ, 2005).

3.8 Coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes totais são um grupo específico de bactérias da família *Enterobacteriaceae* que, diferentemente de outras enterobactérias, fazem a fermentação da lactose produzindo ácido e gás, tal característica é 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 desenvolver 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 β -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 homeotérmicos, enquanto outras são espécies não entéricas (SILVA, 2002).

Coliformes termotolerantes antes denominados de coliformes fecais é formado pelas bactérias que tem 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, 2008).

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 (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, 2008).

3.9 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é um bacilo, Gram negativo, anaeróbia facultativo, que pertence à família *Enterobactereacea* (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, 2016).

Entretanto, algumas *E. coli* são patogênicas, causando doenças do trato intestinal, e também doenças fora do trato intestinal, podendo causar 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 (CLARKE et al., 2003).

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 de Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC) (SOUZA, 2016).

Sua presença 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, 2008).

Atualmente, um dos fatores que preocupam a comunidade científica é a grande probabilidade de colonização da mucosa intestinal do homem, através 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 β -lactamase. A *E. coli* é uma bactéria que produz essa enzima, como resultado, pode-se observar cepas da bactéria resistentes a Penicilina e Carbenicilina, além da resistência à Ampicilina e Oxaciclina de cepas de *E. coli* isolados de mexilhões (DIAS et al., 2010).

As *E. coli* produtoras de toxinas Shiga ou verotoxinas (VTEC), são um grupo *E. coli* que causa humanos, e adquiriu significado para a indústria de alimentos durante os últimos 30 anos (PEXARA et al., 2012; CAPRIOLI et al., 2014; EFSA, 2015).

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 (SOUZA, 2016).

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).

3.10 pH

A acidez natural do leite fresco é oriunda da sua constituição, se deve à presença de caseína, fosfatos, citratos, albumina e dióxido de carbono (SILVA, 1997; BRITO et al., 2005).

A acidez do leite é um fator importante para a avaliação de estado higiênico-sanitário e sua forma de conservação. A temperatura e a higiene aplicadas na manipulação influenciam diretamente neste aspecto, pois em condições ambientais favoráveis, os microrganismos multiplicam-se e suas enzimas hidrolizam a lactose, formando o ácido lático e compostos secundários (PANCOTTO, 2011).

De acordo com Silva (1997), o pH do leite cru varia entre 6,6 e 6,8, com média de 6,7 a 20°C, nos tanques comunitários. Já Venturini et al. (2007) constatou que o pH do leite recém ordenhado de bovinos pode variar entre 6,4 a 6,8, sendo então um indicador da qualidade sanitária e do equilíbrio térmico do leite. Segundo Castanheira et al. (2010) um desequilíbrio do pH poderá ocasionar a redução/aumento da vida de prateleira.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área e período de estudo

A presente pesquisa foi realizada em propriedades leiteiras fornecedoras de matéria prima predestinadas e pertencentes ao grupo industrial mineiro do ramo de laticínios Italac, no município de Rolim de Moura – RO, entre os meses de dezembro de 2018 a fevereiro de 2019.

4.2 Coleta das amostras

Foram coletadas 27 amostras de leite cru, sendo 17 oriundas de ordenha manual e dez de ordenha mecânica. Todas foram coletadas diretamente do tanque de refrigeração em frasco de 50 mL com tampa rosca esterilizados, refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia *campus* Rolim de Moura.

A temperatura do leite cru no resfriador no momento da coleta da amostra foi analisada com termômetro simples. O leite foi mantido sob refrigeração em caixa térmica com gelo e transportadas ao laboratório no dia da obtenção das amostras, onde foram mantidas refrigeradas em temperatura de 4°C até o momento das análises.

4.3 Processamento das amostras

Para as análises das amostras, as embalagens contendo as amostras foram limpas e descontaminadas com álcool 70%. Que 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, onde foram efetuadas diluições seriadas até 10^{-3} , procedendo com a colheita de 1000 μ L da diluição 10^{-1} para tubo contendo 9 mL de Água Peptonada 10^{-2} e sendo transferido 1000 μ L dessa diluição para um segundo tubo de 9 mL com Água Peptonada 10^{-3} . Para a detecção de coliformes totais e termotolerantes, foi usado o método Número Mais Provável.

O método de Número Mais Provável consiste no exame de uma série de tubos onde foram inoculados diferentes volumes das amostras. O valor obtido resulta da consulta a tabelas que foram estimadas com base em fórmulas de probabilidade (SANT'ANNA; CERQUEIRA, 2007).

Dentro de tubos contendo Caldo Lactosado (figura 02) e tubos de Durham foram inoculados 1000 μ L das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , respectivamente e incubados a 37° C por 24 horas, as amostras que apresentaram produção de gás e turvação do meio foram submetidas à prova de confirmação (NASCENTES; ARAÚJO, 2012).

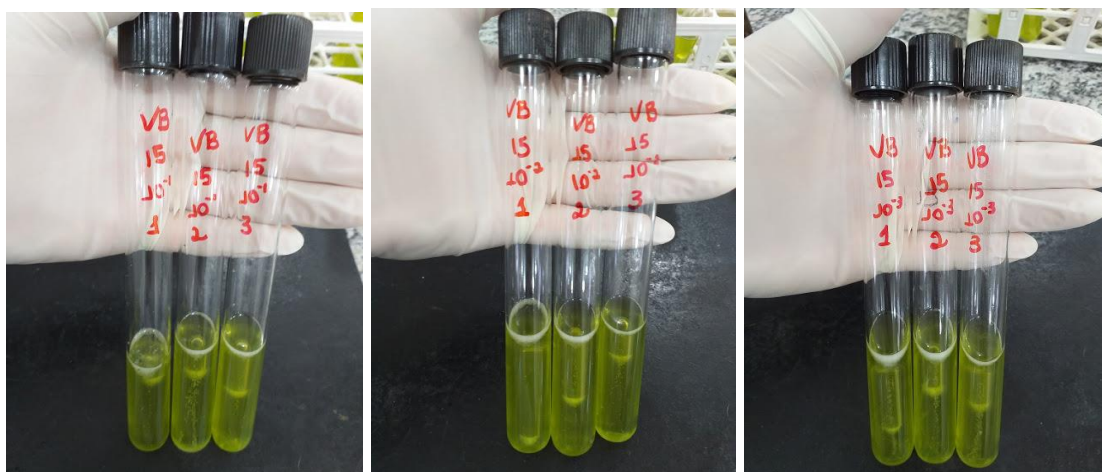
Figura 02 - Amostras positivas inoculadas no Caldo Lactosado nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .



Fonte: Arquivo pessoal.

Para a confirmação de coliformes totais, alíquotas dos tubos positivos para a fermentação de lactose foram inoculados em Caldo Verde Brillante Bile Lactose 2% (figura03) e incubados a 35°C por 24 horas.

Figura 03 - Amostras positivas inoculadas no caldo verde brilhante nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}



Fonte: Arquivo pessoal.

Para a confirmação de coliformes termotolerantes, alíquotas dos tubos positivos para a fermentação de lactose foram inoculados em Caldo *Escherichia coli* (EC) (figura 04), 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) (figura 04), para o crescimento de apenas *Escherichia coli* (NASCENTES; ARAÚJO, 2012). Metodologia aplicada de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas.

Figura 04: Amostras no Caldo *Escherichia coli* (EC) a esquerda e a direita placas Ágar Eosina Azul de Metileno positivas das amostras (dez) 10^{-1} e (treze) 10^{-2} para *Escherichia coli*



Fonte: Arquivo pessoal.

Outro parâmetro aferido dentro das amostras foi o pH utilizando o peagômetro de Bancada Ph2600 (figura 05), após a retirada a quantidade necessária da amostra para a análise microbiológica e o aparelho devidamente calibrado.

Figura 05 - Aferição do pH



Fonte: Arquivo pessoal.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 27 amostras analisadas, sendo 17 oriundas de ordenha manual e dez de ordenha mecânica (tabela 02), todas tiveram crescimento positivo para coliformes totais a 30/35°C, não havendo diferença entre as ordenhas manuais e as ordenhas mecânicas, já em comparação aos coliformes termotolerantes como a *E. coli* das 27 analisadas, 19 apresentaram o crescimento da *Escherichia coli* em ágar EMB e 14 destas estando nas amostras de ordenha manual, conforme pode-se observar os valores de cada amostra para coliformes totais e termotolerantes com base na Tabela de Número Mais Provável / ml (Tabela 03).

Tabela 02 - Características das propriedades analisadas

Amostras	Tipo de ordenha	Faz uso de peneira
01	Manual	Não
02	Manual	Não
03	Mecânica	Sim
04	Manual	Sim
05	Manual	Sim
06	Manual	Sim
07	Manual	Não
08	Manual	Não
09	Manual	Não
10	Manual	Não
11	Manual	Sim
12	Manual	Não
13	Manual	Sim
14	Manual	Não
15	Manual	Não
16	Manual	Não
17	Mecânica	Sim
18	Manual	Sim
19	Mecânica	Sim
20	Manual	Não
21	Mecânica	Sim
22	Mecânica	Sim
23	Mecânica	Sim
24	Mecânica	Sim
25	Mecânica	Não
26	Mecânica	Não
27	Mecânica	Não

Fonte: Arquivo pessoal.

Na tabela de número mais provável (NMP) o <3,0 NMP/mL representa a sequência 0 – 0 – 0, ou seja, significa a ausência de crescimento no meio tanto para os coliformes totais quanto para os coliformes termotolerantes no caso avaliado a *Escherichia coli* e a sequência 3-3-3 é igual a >1100 NMP/mL na técnica de três diluições ou tubos múltiplos.

Tabela 03 - Resultados encontrados de coliformes totais e termotolerantes

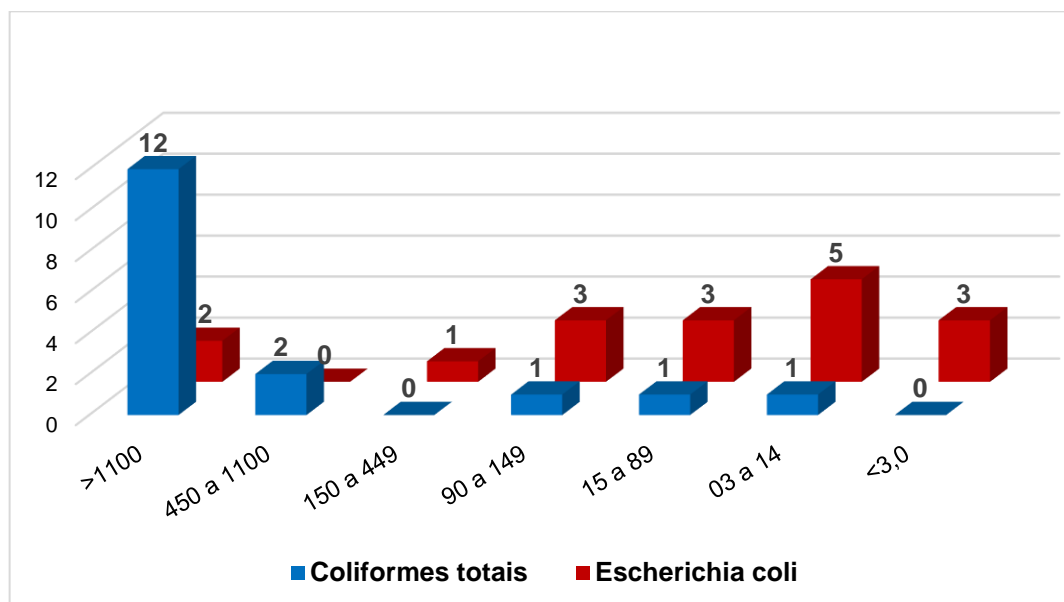
Amostras	Coliformes totais a 30/35°C (NMP/mL)	Coliformes termotolerantes a 45°C (NMP/mL)
01	>1100	>1100
02	>1100	>1100
03	1100	240
04	460	9,2
05	3,6	3,6
06	1100	93
07	>1100	93
08	>1100	150
09	>1100	93
10	>1100	15
11	460	<3,0
12	>1100	15
13	>1100	3,0
14	93	<3,0
15	>1100	240
16	>1100	210
17	>1100	21
18	>1100	<3,0
19	>1100	<3,0
20	>1100	<3,0
21	>1100	<3,0
22	>1100	<3,0
23	93	3,0
24	>1100	<3,0
25	150	3,0
26	>1100	3,6
27	1100	3,0

Fonte: Arquivo pessoal.

Das 17 amostras provenientes de ordenha manual 100% deram positivas quanto a presença de coliformes totais e 82,36% positivas para a presença da

Escherichia coli no meio EMB conforme o (gráfico 01).

Gráfico 01 - Incidência de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras de ordenha manual



Fonte: Arquivo pessoal.

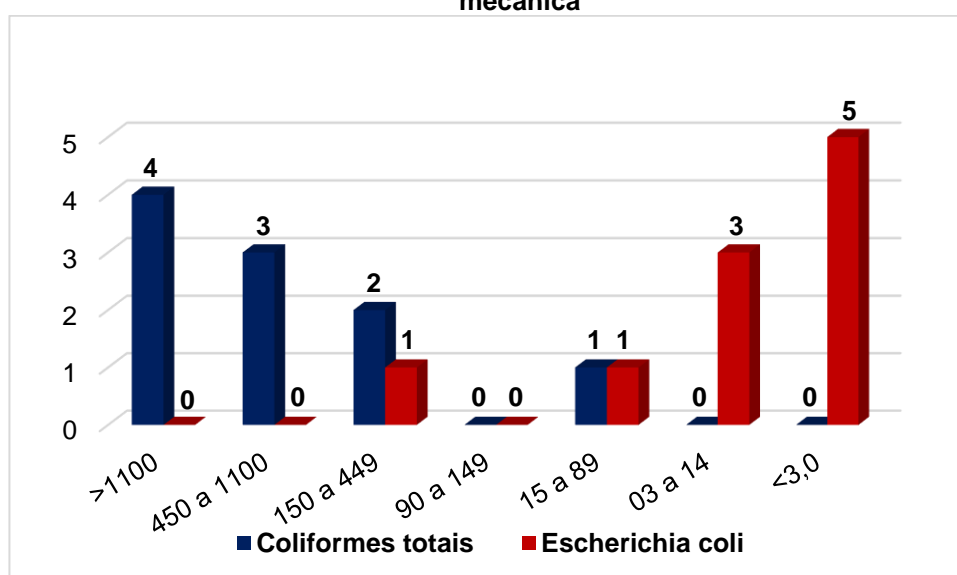
Nascente e Araújo (2012), avaliando o leite cru, comercializados em Minas Gerais, encontraram resultados que variaram entre 3 a >1100 NMP/ mL de coliformes, tendo o autor associado o elevado número de microrganismos no leite cru à inadequada obtenção higiênica do leite, como a possível permanência de resíduos de leite na superfície dos equipamentos, contaminação essa que também evidenciamos no estudo, onde encontramos tanques mal higienizados, ainda com resquícios de leite, além de animais em contato direto com o tanque, onde o tanque tinha que ser isolado por tela, impedindo o contato com os animais, confirmando a precariedade higiênica tanto do tanque de leite, quanto do ordenhador.

Sá et al. (2011) em sua pesquisa analisaram 110 amostras de leite cru refrigerado de propriedades leiteiras no Sudoeste do estado de Minas e verificou a presença de coliformes totais em 94,54% das amostras e coliformes termotolerantes em 78,18% das amostras. Fazendo uma correlação com o estudo, observamos que os valores encontrados foram muito próximos ao encontrado por Sá, acredito que devido a metodologia usada, onde o padrão de coleta e transporte foi o mesmo adotado por Sá, foi relatado a falta de conscientização. O mesmo que observado neste estudo, onde 51% dos produtores não fazem o uso de peneira ao colocar o leite no

tanque de resfriamento. Essa é técnica simples e sem custo elevado, que quando não utilizada e associada ao clima da região aumentam a multiplicação dos microrganismos.

Dentro das dez amostras provenientes de propriedade que utilizam de ordenha mecânica, todas apresentaram a presença de coliformes totais no meio VB, enquanto para os coliformes termotolerantes 50% tiveram a presença da *Escherichia coli* conforme o (gráfico 02).

Gráfico 02 - Incidência de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras de ordenha mecânica



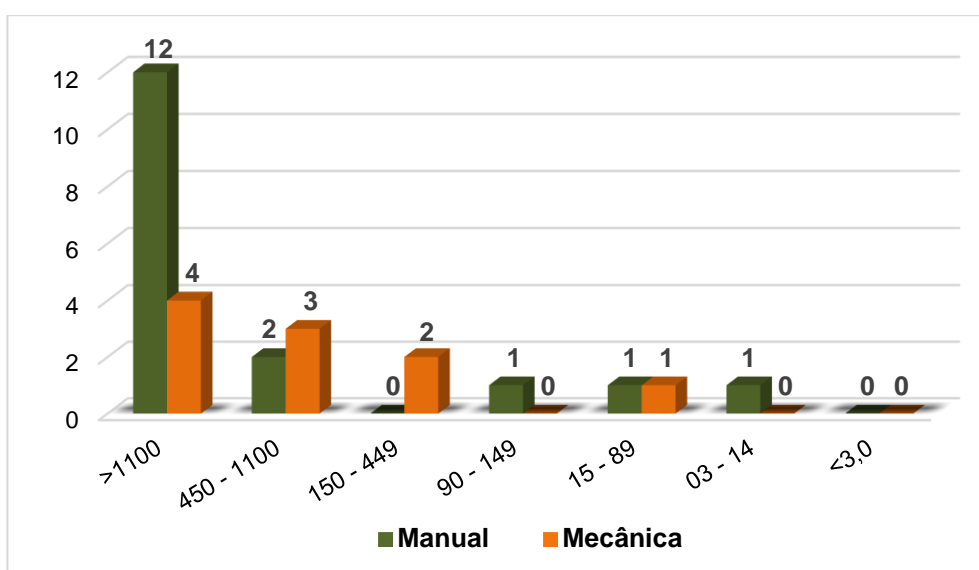
Fonte: Arquivo pessoal.

Quando comparamos a ordenha manual e a ordenha mecânica para os coliformes totais, observamos que todas apresentaram crescimento (gráfico 03). O uso de ordenha mecanizada, onde o contato do leite com o meio ambiente e o ordenhador diminui as chances de contaminação do produto, porém quando levamos em conta uma higienização inadequada dessa ordenha a contaminação também se torna presente.

A utilização de tanques de expansão comunitários é muito comum na região o que também pode contribuir para o aumento da contaminação, onde através do compartilhamento de tanques, um produtor pode contaminar acabar contaminando o leite de um grupo de produtores sendo necessário a análise individual para cada produtor.

Pinna e Lizieire (2000) afirmaram que a qualidade do leite está diretamente relacionada à saúde, alimentação e manejo dos animais, com a qualificação da mão-de-obra, higiene dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha. As mesmas encontradas aqui, onde foi observada a necessidade de conscientização do ordenhador quanto a saúde, sanidade do rebanho onde em algumas das propriedades visitadas o ordenhador não tinha ouvido falar sobre pré-dipping e pós-dipping.

Gráfico 03 - Incidência de coliformes totais nas amostras de ordenha manual e mecânica



Fonte: Arquivo pessoal.

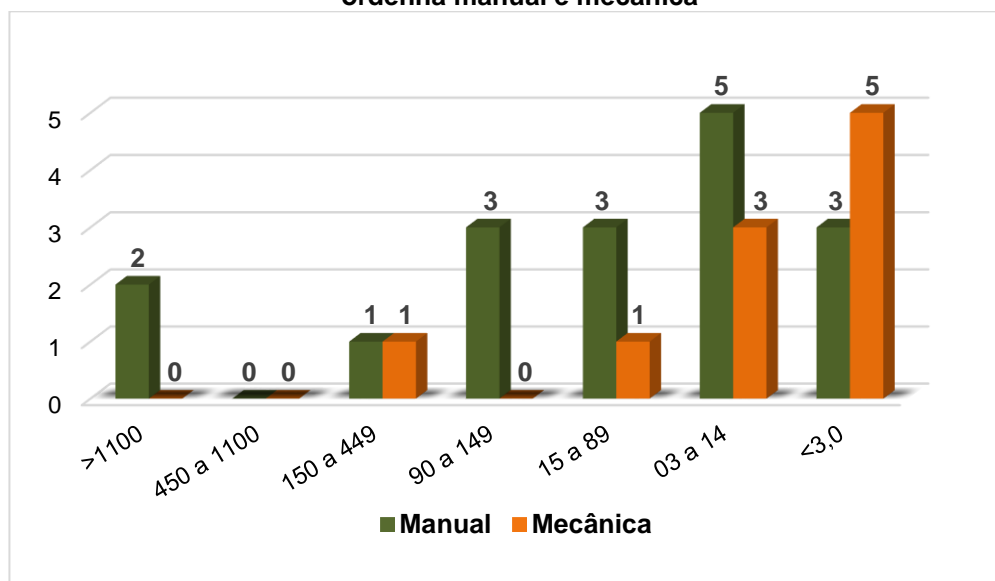
Segundo Martins et al. (2005) números elevados de amostras de leite cru positivas para coliformes totais indicam basicamente a falta de higiene na ordenha manual por parte do ordenhador ou limpeza inadequada dos utensílios que entram em contato com o leite. Contrapondo o que Martins et al. (2005) afirmou, onde constatamos que a contaminação por coliformes totais foi presente tanto na ordenha manual quanto na mecânica o que agrava em relação de como esses ordenhadores estão realizando a higienização após a ordenha mecânica.

Já quando analisamos os resultados da ordenha manual e da ordenha mecânica para a *Escherichia coli* observamos que das dez amostras oriundas da ordenha mecânica, cinco foram negativas para o crescimento, ou seja, 50%. Quando comparamos com as oriundas da ordenha manual onde, de 17 amostras apenas três foram negativas, ou seja, igual a <3,0 representando que apenas 17,64% das amostras de ordenha manual não tiveram crescimento pra *E.coli* no meio EMB conforme o (gráfico 04).

Coliformes termotolerantes, como *E. coli*, podem alcançar os tanques de

refrigeração através da contaminação fecal do úbere ou equipamentos utilizados na ordenha (VAN KESSEL, 2002), contaminação essa que presenciamos em algumas propriedades de ordenha manual, onde se iniciava a ordenha sem a limpeza adequada dos tetos e úbere estes apresentando resquícios de fezes e poeira.

Gráfico 04 - Incidência de coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*) nas amostras de ordenha manual e mecânica



Fonte: arquivo pessoal.

Em sua pesquisa Martins et al. (2005) e Netto et al. (2009) comprovaram que a ordenha manual ou mecânica influencia diretamente na qualidade do leite produzido, ou seja, a ordenha realizada de forma incorreta pode causar contaminação do leite, seja a manual pela falta de higienização do ordenhador como a mecânica pela falta dos utensílios, o que também ficou comprovado no estudo onde as ordenhas manuais obtiveram valores altíssimos para a presença de *Escherichia coli* comprovando grande contaminação quando comparamos com a mecânica, entretanto não elimina a contaminação das ordenhas mecânicas onde também encontramos a presença de *E. coli*, ficando evidenciada à falta de higienização adequada das teteras, onde produtores utilizam apenas água quente para a higienização causando ressecamento das borrachas, causa irritação nos tetos, favorecendo a contaminação.

Em pesquisa realizada por Melo et al. (2010), amostras de leite cru obtidos de duas fazendas apresentaram valores de até 23 NMP/mL de coliformes termotolerantes, valores muito distantes dos que encontramos na pesquisa, acredito

que devido ao baixo número de amostras coletadas por Melo além de que as duas fazendas possuem ordenhas mecanizadas e quase sem nenhum contato do produto com o meio externo, enfatizando que a principal fonte de contaminação do leite dentro da propriedade é pelas mãos ou roupas de quem ordenha, a inadequada higiene dos tetos, muito comum nas ordenhas manuais, além do ambiente com sujidades e até o tanque de armazenamento do leite mal higienizado.

Segundo MA et al. (2000) a qualidade do produto final está diretamente relacionada à carga microbiológica do leite ao chegar na indústria beneficiadora. A aceitação do leite fluido por parte do consumidor depende em grande parte das suas características sensoriais, tais como sabor e aroma, assim como do seu valor nutricional.

Quando avaliamos a existência de contaminações de origem fecal, a bactéria analisada é *E. coli*, usada como indicador mais específico para esse tipo de análise, porque seria o único membro do grupo dos coliformes de origem exclusivamente fecal ao usarmos esse indicador verificamos a presença em nossas amostras, matéria prima que posteriormente irão para as indústrias para o beneficiamento e produção dos derivados, chegando ao consumidor, visto que nenhum processo de pasteurização é 100% eficaz, influenciando diretamente na qualidade do produto final.

A saúde do rebanho leiteiro, as boas práticas durante a ordenha e a conservação do leite em baixa temperatura até o momento do processamento são ações fundamentais para evitar o desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pela sua deterioração, esses cuidados são essenciais para a fabricação de bons produtos derivados, já que a qualidade deste depende, em primeiro lugar, da boa qualidade do leite utilizado como matéria-prima

Já os valores do pH se encontraram dentro da faixa de 6,08 e 7,27, com média de 6,25 valores que revelam um pH próximo a neutro, sendo considerando um valor bom, evidenciando um padrão de temperatura sem muitas alterações, não favorecendo o crescimento microbiológico.

6. CONCLUSÃO

Ações educacionais e um comprometimento mais efetivo dos serviços de inspeção são importantes ferramentas a serem utilizadas como uma forma de auxiliar a melhora das condições produtivas e influenciar positivamente a qualidade do leite.

A diferença entre a ordenha manual e mecânica ficou evidenciada constatando-se que quanto maior a tecnificação maior qualidade do leite.

Ficou evidenciada a presença de coliformes totais e de coliformes termotolerantes no leite cru refrigerado no município de Rolim de Moura – RO.

7. 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.

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. Planta, 2015. 420 p.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 14, 18 set. 2003. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal**. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

CAPRIOLI, A., SCAVIA, G., MORABITO, S. **Public Health Microbiology of Shiga ToxinProducing Escherichia coli**. *Microbiol Spectr.*, 2(6): EHEC-0014-2013. doi: 10.1128/microbiolspec. 2014.

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

CERQUEIRA, M.M.O.P.; PAIVA, C.A.V.; LEITE, M.O.; FONSECA, L.M.; SOUZA, R.M.; PENNA, C.F.A.M. **Impacto da qualidade da matéria-prima na indústria de laticínios**, 2009. Acesso em: 24 ago. 2018. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/media/685911O/impactoqualidade-materia-prima.pdf>

CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. O. **Doenças Transmissíveis pelo Leite e Derivados**. Cad. Esc. Téc. Vet. UFMG, 13:39-62, 1995.

CLARKE, S.C.; HAIGH, R.D.; FREESTONE, P.P.E.; WILLIAMS, P.H. Virulence of Enteropathogenic Escherichia coli, a Global Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews** 16 (3): 365–378. 2003.

COSTA E.O. **Programa nacional de melhoria da qualidade do leite (PNMQL)**. Napgama 8:18-21. 2005.

COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. C. R.; PEREIRA, R. A. G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, p.307- 321, 2009.

COSTA, V. S. *et al.* Análise de custos a partir da cadeia do valor do leite e seus derivados na região Seridó do Rio Grande do Norte. **Revista Ambiente Contábil**, Natal, v.7, n.1, jan-jun., 2015.

DEBUYSER, M.L. *et al.* Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. **International Journal of Food Microbiology**, v.67, n.1-2, p.1-17, 2001.

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.

EDWARDS, N.J.; PARKER, W.J. Increasing per cow milk solids production in a pasture-based dairy system by manipulating the diet: a review. New Zealand Society of Animal Production. **Proceedings**, n.54, p. 267-273, 1994.

EMATER. **Bovinocultura leiteira**. Bovinocultura de leite. Porto Velho, 20 jul. 2016. Disponível em: <<http://www.emater.ro.gov.br/ematerro/bovinocultura-de-leite/>>. Acesso em: 22 de julho 2018.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Gado do Leite – Importância Econômica**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/gado-de-leite/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1096685/o-mercado-de-leite-em-2017>> Acesso em 24 set 2018.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014, In: **EFSA Journal**, n. 13, p. 191, 2015.

FAO. *Food and Agriculture*. Key to achieving the 2030 Agenda for Sustainable Development. **Rome**, 31p., 2016.

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

FONSECA, L.F.L. Pagamento por qualidade: situação atual e perspectivas para o Brasil. SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 5., 2001, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: Instituto Fernando Costa, 2001. p. 17-30.

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

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

FRAZIER, W. C. **Microbiologia de los alimentos**. Acribia, 4ª ed. Zaragoza, España, 681p., 1993.

FROEDER E.; PINHEIRO A.J.R.; BRANDÃO S.C.C. Variação da qualidade microbiológica de leite cru tipo “C” da Região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 40, n. 241, p. 55-68, 1985.

GIACOMETTI C. *et al.*, Foodborne Pathogens in In-Line Milk Filters and Associated On-Farm Risk Factors in Dairy Farms Authorized To Produce and Sell Raw Milk in Northern Italy. **J. Food Prot.** v. 75, n. 1263, 1269p. 2012.

GUERREIRO, P.K. *et al.*, Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciências Agrotécnicas**, v.29, n.1, p.216-222, 2005.

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 subtropical.** Passo Fundo: UPF Editora, 2011. p. 11-27.

HARMON, R. J. **Fatores que afetam as contagens de células somáticas.** In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p. 7-15.

IBGE. Indicadores IBGE: **Estatística da produção pecuária.** 05 set. 2017. Disponível em: <http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201702caderno.pdf>. Acesso em: 17 out. 2018.

LEITE JR, A. F. S.; TORRANO, A. D. M.; GELLI, D. S. **Qualidade microbiológica do leite tipo C pasteurizado, comercializado em João Pessoa, Paraíba.** São Paulo, v. 14, n. 74, p. 45-49, 2000.

LUCHEIS, S. B. Vigilância para *Staphylococcus aureus* produtores de toxinas em leite. **Pesquisa & Tecnologia.** São Paulo, v. 9, n. 1, jan./jun. 2012.

MA, Y. et al. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal Dairy Science,** Champaign, v. 83, p. 264-274, 2000.

MADAPPA, T. **Escherichia coli (E coli) Infections. Medscape.** 18 maio 2017. Disponível: <<https://emedicine.medscape.com/article/217485-overview#a5>>. Acesso em: 05, ago. 2018.

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.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes.** Brasília, 1981.

MURPHY, B.P *et al.* **In-line Milk Filters Analysis: Escherichia coli Surveillance of Milk Production Holdings.** Int. J. Hyg. Environ. Health. 208, 407–413. 2005.

NASCIMENTO, D. M.; *et al.* **Diagnóstico do Agronegócio do Leite e Derivados**

do Estado de Rondônia. SEBRAE. Ed. 1. Porto Velho, 2015. 336 p.

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.

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

OLIVEIRA, J. S. Qualidade microbiológica do leite. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, 31 (186): 15-20, 1976.

OLIVEIRA, A.J.; CARUSO, J.G.B. 1996. **Leite-obtenção e qualidade do produto fluído e derivados.** Piracicaba. FEALQ, 1996. 80pp.

PANCOTTO, A. P. **Análise das características físico-químicas e microbiológicas do leite produzido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul** – campus Bento Gonçalves. 2011. 34 f. TCC (Trabalho de Conclusão em Tecnologia em Alimentos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, 2011.

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.

PEXARA, A., ANGELIDIS, A.S., GOVARIS, A., Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) food-borne outbreaks. **J. Hellenic Vet. Med. Soc.** v. 63, n. 45, 53p. 2012.

RIEDEL, G. **Controle Sanitário dos Alimentos.** 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 320p., 1992.

PONGELUPPE, A. T.; OLIVEIRA, D. B.; SILVA, E. A.; AGUILERA, 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.

PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; LARA, J. A. F.; PIVA, F. C. Variação Sazonal e

Correlação entre Propriedades do Leite Utilizadas na Avaliação de Qualidade. **Revista Higiene Alimentar**, n. 64, V. III, p. 35-39. Setembro de 1999.

ROBINSON, R.K. **Microbiologia lactológica**. Zaragoza, Acribia, 1987. v. 1

ROCOURT, J.; SCHRETTENBRUNNER, A. & SEELIGER, H. P.R..Differénciation biochimique des grupes génomiques de *Listeria monocytogenes* (sensu lato). **Ann. Microbiol.** (Institut Pasteur, Paris) 134 A: 65-71, 1983.

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.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Importância e efeito de bactérias psicotróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

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 set. 2018.

SCHUBERT, M. N. *et al.* Estratégias competitivas das cooperativismo na cadeia produtiva do leite: o caso da Ascooper, SC. **Anais do 47º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**, Porto Alegre, RS, 2009. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/13/104.pdf>> Acesso em 25 jun. 2018.

SILVA, P. H. F. Leite: aspectos de composição e propriedades. **Química Nova na Escola**, n.6, p. 3-5, 1997.

SILVA, Z. N. *et al.* Isolation and serological identification of Enteropathogenic *Escherichia coli* in pasteurized milk in Brazil. **Revista de Saúde Pública** , São Paulo, v. 35, n. 4, p. 375-9, 2001.

SOUZA, C. O.; *et al.* *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. Ananindeua, v. 7, n. 2, jun. 2016.

SOUZA, M. P. Agronegócio do leite: características da cadeia produtiva do estado de Rondônia. *Revista de Administração e Negócios da Amazônia*, v.1, n.1, mai-ago, 2009. Disponível em: <http://www.periodicos.unir.br/index.php/rara/article/download/4/1>. Acesso em 23 out. 2018.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria. 3ª Edição. Editora Universidade Federal de Santa Maria, 2008. 203 p.

VAN KESSEL, J.A. Prevalence of Salmonella enterica, Listeria monocytogenes, Escherichia coli Virulence Factors in Bulk Tank Milk and InLine Filters from US Dairies. *J. Food Prot.*, n. 74, p. 759-768, 2011.

VALSECHI, O. A. **O leite e seus derivados**. Tecnologia de Produtos de 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.

VENTURINI, K. S. *et al.* Características do Leite. **Boletim Técnico- PIE-UFES:01007** - Editado: 26.08.2007, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2007a. Disponível em: <http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf> . Acesso em: 21 mai. 2019.

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: 9 nov. 2018..

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: 9 nov. 2018.

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: 9 nov. 2018.