

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**PREVALÊNCIA DE PATÓGENOS E DE MICRORGANISMOS
INDICADORES EM LEITE INFORMAL E PROCESSADO
COMERCIALIZADOS NO RECÔNCAVO DA BAHIA.**

MONIQUE LIMA DOS SANTOS

CRUZ DAS ALMAS – BA

AGOSTO - 2016

**PREVALÊNCIA DE PATÓGENOS E DE MICRORGANISMOS
INDICADORES EM LEITE INFORMAL E PROCESSADO
COMERCIALIZADOS NO RECÔNCAVO DA BAHIA.**

MONIQUE LIMA DOS SANTOS

Nutricionista

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2013.

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ludmilla
Santana Soares e Barros

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Isabella de
Matos Mendes da Silva

CRUZ DAS ALMAS – BA

AGOSTO - 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS EMBRAPA
MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
MONIQUE LIMA DOS SANTOS

Prof^a. Dr^a. Ludmilla Santana Soares e Barros
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas/UFRB

Prof^a. Dr^a. Tatiana Pacheco Rodrigues
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas/UFRB

Prof. Dr. Geogenes da Silva Gonçalves
Faculdade de Ciências e Tecnologia /FTC

“Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola em _____ conferindo o grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em _____.”

Dedico aos meus pais Miro e
Teresinha, por todo sonho e
dedicação depositados em mim.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pois tudo que sou e tudo que tenho são graças a Ele, que me dá força, coragem e sabedoria para superar os obstáculos encontrados ao longo do caminho.

Aos meus pais Miro e Teresinha, que me apoiam em cada passo, que me dão suporte e o amor que preciso em todas as etapas da minha vida.

À minha irmã Monaize, que sempre está ao meu lado, incentivando e apoiando os meus sonhos.

Ao meu noivo Cristiano, pelo seu amor, carinho, paciência e dedicação em todos os momentos.

À Professora Doutora Ludmilla Santana Soares e Barros, pelo incentivo, orientação e por toda atenção dada durante o trabalho.

À Professora Doutora Isabella de Matos Mendes da Silva, pela sua dedicação, orientação, paciência e confiança depositada em mim durante o desenvolvimento do trabalho.

À Mestre Jerusa Santana, pelos ensinamentos na área de estatística.

Aos meus parceiros de pesquisa e realização do estudo Marcos e Danuza, pelo apoio, dedicação, amizade e companheirismo nos momentos de cansaço e desânimo.

À minhas amigas de estrada Lívia, Gabrielly e Noely, pelo apoio, amizade, incentivo e dedicação durante esses anos.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola pelos conhecimentos transmitidos, contribuindo para a minha vida profissional.

À FAPESB pela concessão da bolsa de estudo.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer.”

Mahatma Gandhi

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Médias e variações das populações microbianas em amostras de leite cru comercializados informalmente em cidades do Recôncavo da Bahia 2015. Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 2 – Médias e variações das populações de *Staphylococcus aureus* encontradas em amostras de leite cru comercializados informalmente em cidades do Recôncavo da Bahia, 2015. Fonte: Dados da pesquisa.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –
Revisão de Literatura

Destaque da produção leiteira no Brasil e distribuição do volume em milhões de litros destinados a cada seguimento nos anos de 2013 e 2014.
Fonte: ABLV, 2014.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI	Infusão de Cérebro Coração
CCAAB	Centro de Ciências da Saúde
CH	Colite Hemorrágica
EAEC	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica
ExPEC	<i>Escherichia coli</i> extraentérica
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
EUA	Estados Unidos América
PCA	Agar Padrão de Contagem
PTT	Púrpura Trombocitopênica Trombótica
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SUH	Síndrome urêmica
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UHT	Ultra High Temperature
UFRB	Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

ÍNDICE

RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1	3
REVISÃO DE LITERATURA: QUALIDADE SANITÁRIA DO LEITE BOVINO E RISCOS ASSOCIADOS À PRESENÇA DE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS.	
O LEITE COMO ALIMENTO	4
COMERCIALIZAÇÃO INFORMAL DO LEITE <i>in natura</i>	7
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE	9
MICRORGANISMOS MESÓFILOS, PSICOTRÓFICOS E TERMÓFILOS	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	12
COLIFORMES TOTAIS	13
COLIFORMES TERMOTOLERANTES E <i>Escherichia coli</i>	14
<i>Escherichia coli</i> ENTEROHEMORRÁGICA (EHEC)	15
<i>Listeria monocytogenes</i>	17
REFERENCIAS	19
CAPÍTULO 2	33
PREVALÊNCIA DE PATÓGENOS E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITE COMERCIALIZADO NO RECÔNCAVO DA BAHIA	33
Resumo	34
Abstract	34
Introdução	35
Material e Métodos	366
Resultados e Discussão	399
Conclusões	47
Agradecimentos	47
REFERÊNCIAS	48
CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
ANEXOS	65

RESUMO

SANTOS, M. L. PREVALÊNCIA DE PATÓGENOS E DE MICRORGANISMOS INDICADORES EM LEITE INFORMAL E PROCESSADO COMERCIALIZADOS NO RECÔNCAVO DA BAHIA.

O presente estudo verificou a presença de microrganismos indicadores de contaminação, assim como a prevalência de *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* em amostras de leite bovino cru, de venda informal, e leite Ultra High Temperature (UHT), comercializados em cinco cidades do Recôncavo da Bahia. Para realização do estudo, foram analisadas 20 amostras de leite cru e 35 amostras de leite UHT, totalizando 55 amostras. A contagem total de microrganismos psicrotróficos, mesófilos e termófilos foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade (*Pour plate*) em meio PCA (Agar Padrão de Contagem). Para a quantificação dos coliformes totais e *E.coli* foi utilizado o meio de cultura Agar base Hicrome™ seletivo ECC. Para identificação de *E. coli* O157:H7 foi utilizado o método rápido de rastreamento imunológico Singlepath®- *E. coli* O157. A população de *S. aureus* foi obtida pelo método rápido Petrifilm™ e a identificação de *L. monocytogenes* foi realizada por meio do método rápido imunocromatográfico Singlepath L'mono®. A partir das análises realizadas no leite *in natura*, foi evidenciada que as populações de microrganismos mesófilos variaram de <1 a 9,0 log UFC/ mL e sua presença foi confirmada em 80,95 % das amostras, das quais 76,47 % estavam acima do valor permitido pela legislação de 5,87 log UFC/ mL (BRASIL, 2011). Os microrganismos psicrotróficos encontraram-se em 85,7 % das amostras, com populações de <1 a 9,0 log UFC/ mL e os microrganismos termófilos estavam presentes em 14,28 % apresentando variação nas populações de <1 a 6,0 log UFC/ mL nos municípios avaliados. Houve presença de coliformes totais em 100% das amostras e de 66,6% de *E.coli* com populações que variaram de <1 a 9,0 log UFC/ mL e <1 a 8,0 log UFC/ mL respectivamente. Quanto aos resultados das análises realizadas no leite UHT, as populações dos microrganismos mesófilos variaram de <1 a 1,68 log UFC/ mL e estavam presentes em 14,28% das amostras, das quais nenhuma ultrapassou o valor permitido pela legislação de 2 log UFC/ mL (BRASIL, 1997). Quanto aos microrganismos termófilos e psicrotróficos, estes se encontram <1 log UFC/ mL. Os coliformes totais estavam presentes em 14,28 % e *E.coli* em 7,14 % das amostras, com

populações que variaram de 0,85 a 2,93 e 0,99 a 1,64 log UFC/mL respectivamente. Por meio da análise microbiológica do leite *in natura*, foi evidenciada a presença de *Staphylococcus aureus* em 76,19 % das amostras avaliadas, com variação da população de <1 a 9,0 log UFC/mL. No leite UHT as amostras analisadas apresentaram valores inferiores a <1 log UFC/mL. Quanto a presença de *E.coli* O157:H7 em amostras de leite *in natura* e UHT foi constada a presença em 6,12 % e 2,04 %, respectivamente. Quanto a análise de *Listeria monocytogenes*, o resultado de todas as amostras de leite estudadas foram negativos. Dessa forma, esses resultados salientam a importância da proibição da comercialização do leite *in natura* pelos órgãos competentes, assim como no acompanhamento das etapas de produção do leite UHT, ressaltando a necessidade da utilização das boas práticas de higiene durante o seu beneficiamento até sua comercialização, visando à produção segura do alimento.

Palavras chaves: Condições higiênico-sanitárias; Comercialização de laticínios; *Escherichia coli* O157:H7; Segurança dos alimentos.

ABSTRACT

SANTOS, M. L. PREVALENCE PATHOGENS AND MICRO INDICATORS IN *in natura* MILK AND PROCESSED MARKETED IN BAHIA RECÔNCAVO.

This study verified the presence of microorganisms contamination indicators, as well as the prevalence of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in raw bovine milk samples, informal sale, milk and Ultra High Temperature (UHT), marketed in five cities of Bahia Reconcavo. For the study, they were analyzed 20 samples of raw milk and 35 samples of UHT milk, totaling 55 samples. The total count of psychrotrophic, mesophilic and thermophilic was performed by plating method in depth (*Pour plate*) among PCA (Count Agar standard). For quantification of total coliforms and *E. coli* was used for a culture medium selective agar base HiCrome™ ECC. For identification of *E. coli* O157: H7 was used fast method of immune screening Singlepath®- *E. coli* O157. The population of *S. aureus* was obtained by the rapid method Petrifilm™ and the identification of *L. monocytogenes* was performed using the rapid method immunochromatographic Singlepath L'Mono®. From the analysis carried out in fresh milk has been shown that populations of mesophilic ranged from <1 to 9.0 log CFU / mL and its presence was confirmed in 80.95% of the samples, of which 76.47% were above the amount allowed by the legislation of 5.87 log CFU / mL (BRAZIL, 2011). The psychrotrophic microbes were found in 85.7% of samples, with populations of <1 to 9.0 log CFU / mL and thermophilic microorganisms were present in 14.28% with variation in populations of <1 to 6.0 log CFU / mL in the evaluated municipalities. There was presence of total coliforms in samples of 100% and 66.6% with *E. coli* populations ranging from <1 to 9.0 log CFU / ml and <1 to 8.0 log CFU / ml respectively. As for the results of analyzes in UHT milk, the populations of mesophilic ranged from <1 to 1.68 log CFU / ml and were present in 14.28% of the samples, none of which exceeded the amount allowed by 2 log legislation CFU / mL (BRAZIL, 1997). As for thermophilic and psychrotrophic microorganisms, these are <1 log CFU / mL. Total coliforms were present at 14.28% and 7.14% of *E. coli* in samples with populations ranging from 0.85 to 2.93 and 0.99 to 1.64 log CFU / mL respectively. Through microbiological analysis of milk in natura, the presence of *Staphylococcus aureus* in 76.19% of the samples was observed with population variance of <1 to 9.0 log CFU / mL. In the UHT milk samples showed values below <1 log CFU / mL. For the presence of *E. coli* O157: H7 in samples of milk fresh and UHT revealed

as being the presence of 6.12% and 2.04%, respectively. As the analysis of *Listeria monocytogenes*, the result of all the milk samples studied were negative. Thus, these results highlight the importance of prohibiting the marketing of fresh milk by the competent bodies, as well as monitoring of UHT milk production steps, emphasizing the need to use good hygiene practices during its processing to marketing, in order to secure food production.

Key words: Sanitary conditions; Dairy marketing; *Escherichia coli* O157: H7; Food safety.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista da Saúde Pública, o leite é considerado um dos alimentos de origem animal de maior valor nutricional para sociedade humana, sendo amplamente consumido no Brasil, devido ao aumento do poder de compra da população (CARVALHO e MORUZZI, 2010).

Todavia, devido a sua riqueza em nutrientes, o leite é um substrato ideal para a proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos, os quais representam um risco à saúde da população, principalmente quando este alimento é ingerido sem tratamento térmico, ou quando o tratamento é ineficiente. A presença de altas populações de alguns microrganismos e suas toxinas compõem as causas mais frequentes de problemas sanitários no leite, além de grandes perdas econômicas (ROCHA et al., 2015).

A venda informal do leite cru ainda é muito comum em algumas regiões do Brasil, principalmente na região Nordeste. Normalmente esse tipo de leite é acondicionado, transportado e comercializado sem controle higiênico-sanitário, tornando-se um veículo de patógenos. Esse problema está relacionado com os aspectos culturais, pois os consumidores adquirem o leite cru por acreditarem ser saudável e por ter baixo custo, sem considerar as condições de higiene e o risco do consumo.

Com a finalidade de tornar o leite seguro e com maior prazo de conservação, este é submetido a tratamentos térmicos que agem na eliminação de microrganismos patogênicos, os quais devem ser realizados de forma eficaz, respeitando o binômio tempo/temperatura para garantia da qualidade do produto.

Quando há falhas no controle sanitário durante as etapas do processamento do leite, estas podem ocasionar uma contaminação pós-processamento, representando um perigo para a saúde do consumidor, uma vez que o leite e os produtos lácteos podem veicular microrganismos associados a surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (REZER, 2010).

No Brasil as principais causas da contaminação do leite processado por microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos são por deficiências no manejo e higiene durante a ordenha, elevados índices de mastites, descuidos com a correta desinfecção e manutenção de equipamentos e falta de treinamento dos colaboradores (PADILHA; FERNANDES, 1999; FRANCO et al., 2000; GUIMARÃES, 2002; CARDOSO e ARAÚJO, 2003).

Uma das ferramentas que vem sendo utilizada pela indústria de alimentos, como forma de avaliar e monitorar a segurança dos processamentos é a determinação dos microrganismos indicadores de qualidade, como os mesófilos, psicrotróficos, termófilos e os coliformes totais, os quais permitem avaliar os fatores correlacionados à contaminação pós-tratamento térmico, a possível presença de patógenos, a estimativa do potencial de deterioração e a determinação do tempo de vida útil do produto (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O grupo dos coliformes termotolerantes corresponde aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubados a uma temperatura de 44°C-45 °C (MIRANDOLA, 2006). Entre estes, um microrganismo bastante utilizado para avaliar as condições higiênico-sanitárias de água e alimento é *Escherichia coli*, pois é o único indicador de contaminação de origem fecal (TODAR, 2008).

A ocorrência de *E.coli* em alimentos é considerada uma preocupação de Saúde Pública, devido à possível presença de cepas enteropatogênicas e/ou enterotoxigênicas. As cepas de *E. coli* enteropatogênica podem causar diarreia grave e vômito, enquanto as cepas toxigênicas como *E. coli* O157: H7 podem causar colites enterohemorrágicas e síndrome urêmica (SUH) (KAWANO et al., 2001; SOOMRO et al., 2002).

Outras bactérias patogênicas podem ser encontradas no leite, como *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, as quais podem contaminar o leite em qualquer uma das etapas de produção, beneficiamento, distribuição e consumo (RAIMUNDO, 2013).

Diante do exposto, enfatiza-se a importância de avaliar a qualidade sanitária do leite *in matura* informal e o leite processado, com a finalidade de orientar a população quanto ao risco do consumo do leite sem processamento térmico, assim como aos produtores e a indústria sobre os cuidados no controle sanitário em todas as etapas do beneficiamento do leite, afim de que estes comercializem produtos seguros a população.

Este trabalho foi dividido em dois capítulos: a revisão de literatura está representada no primeiro capítulo, abordando aspectos importantes acerca do leite e sobre os microrganismos mesófilos, termófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli*, *E.coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes*. E o segundo capítulo, em forma de artigo, relata a qualidade sanitária do leite *in natura* e UHT, por meio dos resultados dos microrganismos indicadores e a presença de microrganismos patogênicos nos leites.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA: QUALIDADE SANITÁRIA DO LEITE BOVINO E RISCOS ASSOCIADOS À PRESENÇA DE MICROORGANISMOS PATOGÊNICOS.

O LEITE COMO ALIMENTO

Entende-se por leite, produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002). Do ponto de vista físico-químico a maior fração do leite é composta de água, apresentando 87,3% e 12,7% restantes de sólidos totais. Os sólidos são divididos em 3,6% de gordura e 9,1% de extrato seco desengordurado, o qual compreende 3,3% de proteínas, 4,9% de lactose e 0,9% de minerais (TRONCO, 2010).

O leite contém vitaminas lipossolúveis A, D, E e K, que ficam suspensas na gordura, e hidrossolúveis B1, B2 e C e os sais minerais que se encontram em dissolução, sendo os principais cálcio, sódio, potássio e magnésio e representam uma das principais fontes de proteína e cálcio da população brasileira (VILELA et al., 2002).

Vários fatores como espécie, raça e genética do animal, alimentação, idade e período de lactação podem contribuir para uma variação em sua composição (PEREIRA, 2010). No entanto, em um modo geral, o leite possui uma alta atividade de água e pH próximo da neutralidade, os quais, associados à disponibilidade de nutrientes, tornam o meio favorável à multiplicação microbiana (ARCURI et al., 2006).

Porém, nem todos os microrganismos presentes no leite causam deterioração. As bactérias lácticas presentes, como as do gênero *Lactobacillus*, atuam benéficamente sobre as características do leite e de produtos lácteos. São utilizadas no processo tecnológico como culturas *starters*, pois produzem ácido láctico a partir da lactose, participam do processo de maturação de queijos, produzem diacetil e acetaldeído, que conferem aroma e sabor característico aos produtos (ORDOÑEZ, 2005).

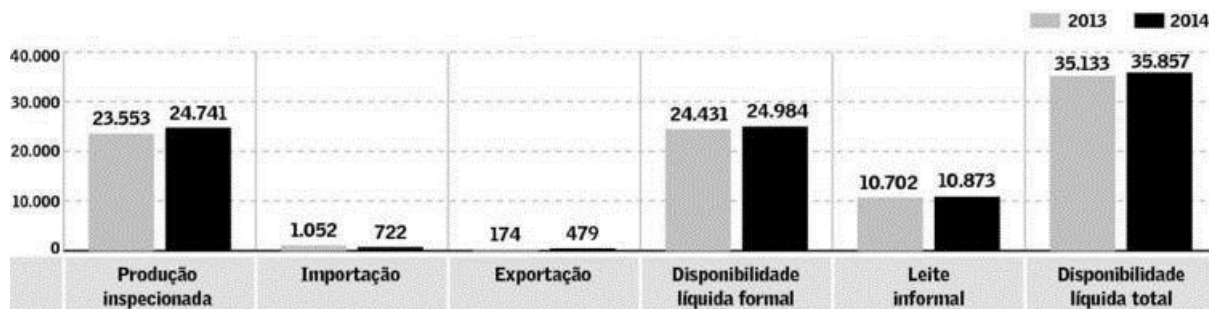
Atualmente o Brasil é o quarto maior produtor de leite do mundo (USDA, 2015), apresentando uma aquisição de 24.049, 786 mil litros de leite cru em 2015 (IBGE, 2016). O Estado que apresentou maior produção foi Minas Gerais, apresentando um valor de 6.439,650 mil litros de leite. Nesse mesmo ano, o Estado da Bahia contribuiu com a produção de 332.449 mil litros em 2015, tornando-se o maior produtor da região Nordeste (IBGE, 2016).

A produção do leite UHT, denominado leite longa vida, corresponde a 20% da produção total do leite *in natura* adquirido no Brasil, o qual representou uma das mais relevantes mudanças estruturais do mercado lácteo brasileiro (GALAN, 2014). Em 2014 a produção de leite longa vida somou 6,6 bilhões de litros (Figura 1), um aumento de 3,4 % sobre 2013, movimentado cerca de R\$ 15 bilhões (ABLV, 2015).

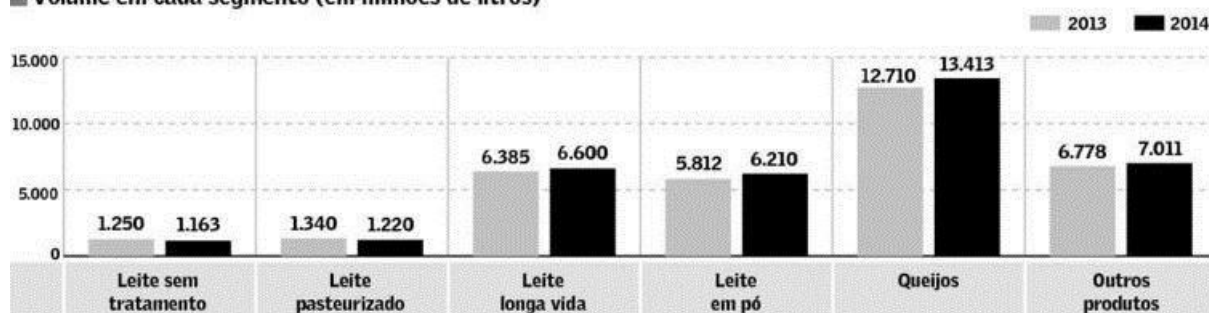
Figura 1 - Destaque da produção leiteira no Brasil e distribuição do volume em milhões de litros destinados a cada seguimento nos anos de 2013 e 2014.

Leite no Brasil

Destaques do setor (em milhões de litros)



Volume em cada segmento (em milhões de litros)



Fonte: Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida

O uso de tratamento térmico para garantir a qualidade dos produtos alimentícios tem ocupado um espaço relevante na evolução da tecnologia de alimentos. É possível encontrar inúmeros produtos de origem vegetal e animal que foram submetidos a tratamentos com temperatura ultra elevada nos mercados, associados a sistemas de embalagens com fechamento hermético e impermeável à luz e oxigênio, permitindo a conservação à temperatura ambiente (BASTOS, 1999).

Em 2014 o mercado mundial obteve uma produção de aproximadamente de 140 bilhões de litros de bebidas em 330 bilhões de embalagens assépticas, dessas 42% para leite e 39% de bebidas como sucos e outros produtos lácteos, sopas, molhos, produtos de tomate e alimentos para bebês compõem o restante (WARRICK RESEARCH; ZENITH INTERNATIONAL, 2015).

Segundo Bastos (1999), O leite UHT tornou-se um produto de destaque e de fácil comercialização e consumo, fatores estes atribuídos à sua tecnologia. Sendo o mais importante no tratamento por UHT o binômio tempo/temperatura, que garante a obtenção de um processo de esterilização comercial. O leite UHT é definido como leite homogeneizado,

submetido a uma temperatura entre 130 °C e 150 °C, durante 2 a 4 segundos, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32 °C e envasado em condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1997). A esterilização pode ocorrer por aquecimento direto, no qual ocorre mistura do vapor com o leite ou por aquecimento indireto, no qual o agente térmico não se mistura com o leite, mas é transferido por parede metálica (TRONCO, 2010; VARNAM; SUTHELAND, 1995). Após a esterilização não é necessário que o produto se mantenha refrigerado enquanto fechado, no entanto é indispensável que após a abertura da embalagem o mesmo fique em refrigeração durante o consumo dentro do prazo de validade estipulado pelo fabricante.

De acordo com a resolução nº 12-2001 da ANVISA, após sete dias de incubação entre 35 a 37 °C em embalagem fechada, o leite UHT não deve apresentar microrganismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento (BRASIL, 2001).

A qualidade da maior parte dos produtos lácteos está diretamente relacionada com a qualidade microbiológica do leite cru utilizado como matéria-prima. Fatores como temperatura, condições e extensão da estocagem do leite, podem contribuir para a multiplicação intensiva de vários grupos de microrganismos, os quais podem produzir altas concentrações de enzimas, principalmente lipases e proteinases (VIDAL-MARTINS et al, 2005).

Levando em consideração a produção primária, é importante o conhecimento da qualidade microbiológica do leite, das fontes de contaminação, dos principais microrganismos contaminantes e dos problemas decorrentes dessa contaminação para o leite e derivados (OLIVEIRA et al., 2011; COSTA et al., 2012).

Para que a qualidade da matéria prima utilizada no processamento do leite UHT, não interferisse no produto final, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011, instituiu a obrigação de refrigeração do leite de no máximo 4 °C em todas as propriedades leiteiras e a necessidade de transporte em tanques isotérmicos para manutenção do leite resfriado (BRASIL, 2011).

Sendo assim, é necessário que os produtores cumpram as regulamentações quanto à obtenção e transporte do leite cru refrigerado, objetivando melhorar a qualidade da matéria prima a ser utilizada para o beneficiamento do leite UHT. Assim como, é de suma importância que as indústrias possuam um sistema de monitoramento adequado do processo

de pasteurização, pois se trata de uma das principais barreiras no sentido de impedir a multiplicação de microrganismos indesejáveis (WESCHENFELDER et al, 2016).

Nesse sentido, ressalta-se a importância da submissão do processamento térmico do leite, o qual garante a destruição da maior parte dos microrganismos nele encontrados. De acordo com Claeys et al (2013), o consumo de leite cru pode trazer sérios prejuízos a saúde do consumidor, uma vez que o leite é um excelente veículo para microrganismos patogênicos, responsáveis por diversas doenças de origem alimentar.

COMERCIALIZAÇÃO INFORMAL DO LEITE IN NATURA

A venda informal do leite in natura é realizada diretamente do produtor ao consumidor, sem garantias que os produtores tenham seguido as condições mínimas de higiene exigidas para sua obtenção, transporte e comercialização (BELOTI, 2002). Esse produto constitui uma preocupação de saúde pública, pois o leite cru pode ser veículo de patógenos, se obtido e manipulado em condições inadequadas, sendo um risco potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados (NERO et al., 2004; ARIMI et al., 2005; MAKITA et al., 2012; LYE et al., 2013).

Embora haja um perigo no consumo desse tipo de produto, fatores como praticidade, preços baixos, cultura regional e a crença de que o produto vindo direto do produtor é mais saudável que o industrializado, são utilizados como justificativa para o consumo de leite *in natura* em várias regiões do Brasil. (BERSOT et al., 2010).

Além disso, muitas pessoas acreditam que o aquecimento é responsável por destruir os benefícios nutricionais e de saúde do leite, não levando em consideração que o leite cru pode veicular patógenos como *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, e *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (HILL et al., 2012; CLAEYS al., 2013; SERRAINO et al., 2013).

Em alguns países como na Inglaterra, Alemanha e alguns estados dos Estados Unidos (EUA) é permitida a comercialização direta do leite cru ao consumidor, no entanto os produtores devem respeitar algumas exigências para sua comercialização. A Food Standards Agency (FSA) lista alguns desses critérios para os países europeus. Dentre eles destacam que o leite só pode ser vendido diretamente aos consumidores e não por meio da venda em estabelecimentos; o leite deve ser oriundo de animais que oficialmente estejam livres de tuberculose e brucelose; toda exploração de produção, instalações de ordenha e produtos lácteos, deve respeitar as normas de higiene; os produtores são monitorados por inspeções

duas vezes ao ano; o leite é submetido a análises microbiológicas trimestralmente, sob o controle da Agência para monitorar o cumprimento das normas para contagem bacteriana total e coliformes (FSA, 2015).

O NMC (National Mastitis Council) dos EUA, juntamente com outras organizações de saúde pública, agências e associações recomendam o consumo de leite pasteurizado e desestimulam a venda e o consumo de leite cru. Nos Estados pertencentes ao EUA nos quais o leite cru é vendido legalmente, o NMC também estimula estratégias para reduzir riscos à saúde humana que são inerentes ao consumo destes produtos (NMC, 2009).

A proibição da comercialização do leite cru no Brasil foi imposta por meio da Lei nº 1.283 de 18/12/1950 e do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA - Decreto nº 30.691 de 29/03/1952) (BRASIL, 1952), no entanto a sua venda informal ainda é realizada até os tempos atuais.

Quintana e Carneiro (2006) em estudo realizado no município de Morrinhos (GO) analisaram 21 amostras de leite cru comercializado clandestinamente e 71,4 % amostras apresentaram populações de bactérias mesófilas superiores a 10^5 UFC/mL; 28,5 % indicaram níveis de *Staphylococcus aureus* superiores a 10^4 UFC/mL; os índices para bactérias psicotróficas e coliformes totais ultrapassam 10^4 UFC/mL em 58 % e 35 % das amostras, respectivamente, e 24 % estavam contaminadas com coliformes termotolerantes. Em outro estudo realizado por Maciel et al. (2008), com leite cru comercializado em Itapetinga (BA), todas as 30 amostras analisadas estavam contaminadas com coliformes totais e coliformes a termotolerantes em números que variaram de $1,5 \times 10^3$ a $2,4 \times 10^5$ e $1,5 \times 10^3$ a $9,3 \times 10^4$ NMP/mL respectivamente e a presença de *E. coli* foi confirmada em quatro amostras.

Barreto et al. (2012), analisando a qualidade microbiológica do leite *in natura* comercializado em 25 estabelecimentos situados em Cruz das Almas na Bahia, por meio da quantificação de microrganismos heterotróficos mesófilos e psicotróficos aeróbios, bolores e leveduras, *Staphylococcus* spp., Estafilococos coagulase positiva, coliformes totais e termotolerantes e presença de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, observaram uma elevada população microbiana em todas as amostras analisadas, independente do estabelecimento obtido.

Frente à situação, é notória a importância de estudos que investiguem, de forma contínua, a comercialização e o consumo de leite cru no Brasil, buscando esclarecer as causas que contribuem para essa prática, oferecendo assim, subsídios para a implantação de políticas públicas com o objetivo de resguardar a saúde da população brasileira (BASSAN et al, 2013).

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE

As condições microbiológicas do leite representam um dos principais parâmetros utilizados para fornecer informações sobre as condições higiênico-sanitárias, desde a sua produção até seu armazenamento e distribuição (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Segundo Silva et al. (2010), existem vários atributos para que o leite possa ser considerado um alimento de boa qualidade, como as características físico-químicas como Acidez Titulável, Densidade, Teor de gordura e Índice Crioscópico, que conferem estabilidade ao produto, os aspectos microbiológicos inócuos, principalmente a presença de patógenos, e procedimentos adequados de sua obtenção, como bons padrões higiênico-sanitários.

As principais fontes de contaminação do leite cru por microrganismos podem ser do interior da glândula mamária, da superfície exterior do úbere e tetos, e da superfície dos equipamentos e utensílios de ordenha (SANTOS; FONSECA, 2001). Outros fatores também podem influenciar no surgimento e proliferação de microrganismos no leite, como falhas no controle de temperatura dos tanques de armazenamento, transporte e processo térmico ineficiente.

De acordo com Nascimento e Souza (2002), as características microbiológicas do leite estão inteiramente relacionadas com a contaminação inicial e com a taxa de multiplicação dos microrganismos. Ressalta-se que a taxa exponencial de multiplicação microbiana é dependente do binômio tempo-temperatura, ponto crítico do sistema de transporte e armazenamento.

Dessa forma, a análise microbiológica desse produto fornece informações úteis que reflete as condições em que este foi obtido, processado e armazenado (PIETROWSKI et al., 2008). Por meio da população de microrganismos encontrada é possível ter um parâmetro do estado geral de saúde do rebanho, do saneamento do ambiente e das medidas de controle aplicadas na fazenda (HAYES et al., 2001).

Estudos realizados no Brasil retratam a qualidade microbiológica do leite produzido. Araújo et al. (2009) analisaram a qualidade microbiológica de leite cru refrigerado de propriedades da bacia leiteira do município de Luz, em Minas Gerais, e, de acordo com os resultados da população de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E.coli* no leite, 87,5 % das propriedades apresentaram amostras fora dos padrões estabelecidos pela Resolução RDC nº 12-2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001).

Real et al. (2013), avaliaram a qualidade físico-química e microbiológica de leite UHT integral e detectaram que duas das três marcas avaliadas não estavam em conformidade com os padrões microbiológicos, apresentando valores acima de 100 UFC/mL de mesófilos aeróbios.

Montanhini e Hein (2013) analisando a qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Piraí do sul (PR), identificaram que do total de 23 amostras analisadas, foram encontradas cinco (22%) com contagem de células somáticas; e seis (26%) de contagem bacteriana total com resultados acima dos padrões máximos determinados pela Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011.

Na Bahia, um estudo avaliou a qualidade microbiológica em leite cru e pasteurizado comercializados no Recôncavo, constatou que todas as 50 amostras de leite cru e 20 amostras de leite pasteurizado analisadas apresentam-se contaminadas com coliformes totais, termotolerantes e microrganismos mesófilos (OLIVEIRA et al, 2012).

Um estudo realizado no município de Amargosa (BA), verificou a presença de bactérias aeróbias e anaeróbias e espécies de *Candida* em leite cru de seis fazendas. Foram encontrados resultados insatisfatórios devido à presença de 9,68 e 35,48 % de mastite clínica e subclínica, respectivamente; 12,74% de *Staphylococcus aureus*, 18,26% de enterobactérias, 12,5% de *Candida albicans*, 7,5% de *Candida krusei*, 10% de *Candida tropicalis* e 42,5% de espécies de *Candida* no leite cru produzido (BARROS et al., 2011).

Dessa forma, verifica-se que por meio de vários estudos recentes quanto à qualidade microbiológica do leite bovino, que o leite produzido e comercializado no Brasil, ainda se encontra de má qualidade. É necessária maior fiscalização por parte dos órgãos competentes nas propriedades e indústrias leiteiras, visando que os mesmos sejam conscientizados quanto à utilização de estratégias que diminuam a problemas relacionados com a contaminação microbiana no leite, assim como o cumprimento das normas vigentes referentes à produção do produto.

MICROORGANISMOS MESÓFILOS, PSICOTRÓFICOS E TERMÓFILOS

Os microrganismos são classificados em três grupos de acordo com a temperatura ideal para sua multiplicação. Em psicrófilos, os quais podem crescer a 0 °C, mas apresentam uma temperatura ótima de crescimento de cerca de 15 °C, esses também podem ser classificados em psicrotróficos que possui geralmente uma temperatura ótima de crescimento entre 20 a

30°C. Os microrganismos mesófilos que possuem temperatura ótima de crescimento de 25 a 40 °C e os termófilos que são capazes de crescer em altas temperaturas, em média 50 a 60°C (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

A temperatura de armazenamento do leite pós-ordenha é um fator determinante para a proliferação microbiana, principalmente pelos microrganismos mesófilos e esses causam acidificação do leite, por meio do acúmulo de ácido láctico resultante da fermentação da lactose, diminuindo, assim, a qualidade do produto mesmo após o tratamento térmico. (LORENZETTI, 2006; JAY, 2005). Os microrganismos mesófilos possuem a capacidade de se multiplicarem em temperatura ambiente, e parte deles constituem a microbiota do leite, sendo o meio ambiente e a manipulação inadequada dos ordenhadores os principais veículos de contaminação desse grupo (LORENZETTI, 2006).

Dessa forma o uso da refrigeração do leite após a ordenha objetiva reduzir a multiplicação de microrganismos mesófilos, no entanto temperaturas baixas contribuem para a multiplicação da microbiota psicrotrófica presente no leite cru, ocasionando em diversas alterações no leite e seus derivados (FAGUNDES et al., 2006). Os psicrotróficos encontrados no leite são de origem ambiental, provindos do solo, água, vegetação, úbere do animal e dos equipamentos mal higienizados utilizados durante a ordenha. São microrganismos termolábeis, no entanto, suas enzimas são resistentes ao tratamento térmico (SANTANA et al., 2001), podendo assim manterem-se ativos após os tratamentos de pasteurização e UHT.

Segundo Cunha e Brandão (2000) as enzimas termorresistentes produzidas pelos psicrotróficos são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor residual no leite pasteurizado, e pela deficiência de determinados processos na produção de queijos, como a perda de rendimento e aparecimento de defeitos, causando grandes perdas econômicas para as indústrias de laticínios.

Os gêneros mais encontrados nesse grupo são *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* e *Micrococcus* (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Brasil (2001) e Brasil (2011) não estabelecem um limite máximo permitido de microrganismos psicrotróficos, porém de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1980), o leite deve apresentar no máximo, 10% de microrganismos psicrotróficos em relação à contagem total de mesófilos. Com base nesse parâmetro, diversos estudos foram realizados no Brasil (RAMOS et al., 2014; BRANDÃO et al., 2013; SAEKI, 2010), com o objetivo de analisar a multiplicação dos psicrotróficos em leite refrigerado e todos mostraram valores indesejáveis.

Outro tipo de microbiota que pode estar presente no leite a depender da temperatura submetida é a termófila. Esses microrganismos são capazes de se multiplicar em temperaturas altas e são classificados em termófilos moderados, quando a faixa de temperatura de multiplicação está entre 20 °C e 55 °C; termófilos extremos, quando seu crescimento se dá em temperaturas de 65 °C a 85 °C; ou ainda hipertermófilos, quando cresce entre 85 °C até 110 °C (MADIGAN; OREN, 1999).

Normalmente o leite cru contém poucas bactérias termófilas, embora elas possam estar presentes em número suficiente para se desenvolverem no leite mantido em temperaturas elevadas, ocasionando um grande número desses microrganismos no produto (LORENZETTI, 2006). Desse modo, esses microrganismos constituem problemas no leite pasteurizado e UHT quando algumas porções são mantidas, por algum tempo, entre 50 °C a 70 °C (ICMSF, 1994).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus são cocos Gram-positivos em formas de cachos de uva com diâmetro variando entre 0,5 e 1,5 µm, anaeróbios facultativos, imóveis e não formadores de esporos (DOWNES; ITO, 2001). Normalmente são encontrados na pele e nas mucosas de homeotérmicos, incluindo humanos e frequentemente isolados em uma variedade de alimentos como carne, queijo e leite (HEIKENS et al., 2005) Quando presentes no leite e em outros produtos, esses podem ser destruídos por meio de tratamento térmico, no entanto as enterotoxinas responsáveis pela intoxicação são termoestáveis. (FRANCO; LANDGRAF, 2008; MHONE et al., 2011).

As enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus* são definidas como capazes de causar intoxicação alimentar estafilocócica com atividade emética e incluem as A, B C, D, E, G, H, I, R e T e também as J, K, L, M, N, O, P, Q, S, U, V e X, que são caracterizadas por não induzirem emese em seres humanos. No entanto, recentemente foi detectado em estudo evidências adicionais de que estas enterotoxinas sejam capazes de causar intoxicação alimentar estafilocócica em seres humanos (XU; MC CORMICK, 2012)

Atualmente o gênero é composto por 52 espécies e 28 subespécies (EUZÉBY, 2016), as quais são divididas em duas categorias: Estafilococos coagulase positiva (SCP) e Estafilococos coagulase negativa (SCN), de acordo com a capacidade de coagulação do

plasma sanguíneo. Entre os coagulase positiva encontra-se a espécie *Staphylococcus aureus*, patógeno responsável por muitas doenças em humanos (PERILLO et al., 2012).

Segundo Rosengren et al. (2010), as fontes de contaminação do leite por *S. aureus* são ocasionadas principalmente pelos animais, manipulação humana, água, equipamento de ordenha e o ambiente. É principal agente causador da mastite, especialmente em bovinos, ovinos e caprinos, tornando-se um contaminante comum do leite cru (MHONE et al., 2011).

O consumo de alimentos contendo enterotoxinas, produzidas por *Staphylococcus enterotoxigênicos* causam a intoxicação estafilocócica, a qual constitui um dos tipos mais comuns de DTA (LE LOIR; BARON; GAUTIER, 2003). De acordo com Germano e Germano (2011), o tempo de incubação é em média de duas a quatro horas (de 30 minutos a 8 horas). Os sintomas apresentam início rápido e de natureza aguda, variando de acordo com o grau de suscetibilidade do indivíduo, concentração da enterotoxina no alimento, quantidade consumida do alimento e o estado pregresso do paciente. Os sintomas mais comuns são náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia, normalmente sem febre. Nos casos mais graves pode ocorrer cefaleia e prostração e a recuperação geralmente ocorre após 24 a 48 horas.

COLIFORMES TOTAIS

Os coliformes totais são bactérias em forma de bastonete, imóveis ou não, aeróbias ou anaeróbias facultativas, não esporogênicas, gram-negativas, oxidase negativas e catalase positivas e se multiplicam na presença de sais biliares. São capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35 °C -37 °C durante 48 horas (ENVAGELISTA, 2001).

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae que compreende aproximadamente 20 gêneros bacterianos. A maioria destes gêneros é encontrada no trato intestinal de humanos e animais e conseqüentemente em suas fezes, excetuando se os gêneros *Serratia* e *Aeromonas* que não constituem gêneros entéricos. Alguns coliformes não entéricos usualmente são encontrados em amostras de plantas e solo (JAY, 2005; MOURA et al., 2010). Por serem comumente encontrados no ambiente, a presença dos coliformes totais nos alimentos é de grande importância como indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento (MIRANDOLA, 2006).

COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *Escherichia coli*

O grupo dos coliformes termotolerantes corresponde aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubados a uma temperatura de 44°C-45 °C (MIRANDOLA, 2006).

A ocorrência desse grupo em alimentos frescos de origem animal, como leite, indica falhas higiênicas na manipulação e/ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008), sendo o gênero *Escherichia* a espécie mais prevalente desse grupo (JAY, 2005).

Escherichia coli é um patógeno Gram negativo, entérico, anaeróbico facultativo que coloniza o epitélio intestinal e apresenta motilidade devido à presença de flagelo peritrico. É caracterizado bioquimicamente como sorbitol negativo, MUG negativo (enzima β glucuronidase não é fenotipicamente expressa), oxidase negativa, Voges ProsKauer negativo, citrato negativo, indol positivo, motilidade positiva, formação de gás positivo e catalase positiva (TEIXEIRA, 2008).

Seu habitat natural é o trato intestinal dos humanos e de outros animais de sangue quente. A transmissão das infecções causadas por *E. coli* seguem principalmente três vias: o contato direto com animais, o contato com humanos e o consumo de alimentos contaminados (PELCZAR et al., 1997). Em hospedeiros imunossuprimidos, ou quando as barreiras gastrointestinais são atravessadas, podem provocar doenças infecciosas e algumas cepas mutagênicas podem causar doenças em hospedeiros sadios (NAKAZATO et al., 2009).

A maior parte das cepas de *E.coli* se multiplica em baixas temperaturas (4-5 °C), apresentando temperatura ótima de 37 °C em média, com relatos de sobrevivência por mais de nove meses em temperatura de congelamento (-20 °C) (DOYLE; SCHOENI, 1987). Temperaturas entre 60 °C e 70 °C por 30 minutos são capazes de inativar a maioria das cepas. Em relação ao pH, são consideradas neutrófilas, multiplicando-se entre 4,5 a 9, sendo que em pH extremo não é capaz de eliminar a célula (VIEIRA, 2010).

Essa espécie possui aproximadamente mil tipos de antigênicos, porém apenas uma minoria de cepas é capaz de provocar doença ao ser humano. Os antígenos somáticos O, são relacionados com os polissacarídeos da membrana externa; os antígenos flagelares H são relacionados com proteínas de flagelos e os antígenos K são relacionados com polissacarídeos capsulares. O antígeno “O” identifica o sorogrupo da cepa enquanto que a combinação do antígeno “O” com o antígeno “H” irá identificar o sorotipo (MENG; FENG; DOYLE, 2001).

As cepas de *E.coli* diarreiogênicas, que causam infecção intestinal, são definidas pelas combinações distintas de fatores de virulência, sendo subdivididos em: EHEC (*E.coli*

enterohemorrágica); *E.coli* enteropatogênica (EPEC); *E.coli* enterotoxigênica (ETEC); *E.coli* enteroagregativa (EAEC); *E.coli* enteroinvasora (EIEC) e *E.coli* aderência difusa (DAEC) (CROXEN; FINLAY, 2010).

O patotipo EHEC está relacionada a um amplo espectro de doenças humanas, que compreende desde diarréias leves a quadros de colites enterohemorrágicas e de Síndrome Urêmica Hemolítica (SUH) em seres humanos, sendo uma preocupação para saúde pública (NATARO; KAPER, 1998; GRIFFIN; TAUXE, 1991).

***Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICA (EHEC)**

EHEC é também conhecida como *E. coli* verotoxigênica (VTEC) ou de *E. coli* Shiga Toxigênica (STEC) por ter a capacidade de produzir toxinas que são citotóxicas para as células Vero e por ser semelhante à toxina produzida pela *Shigella dysenteriae* (O'BRIEN et al., 1982). São mais de 50 sorotipos de EHEC e *Escherichia coli* O157:H7 é a bactéria mais comum e melhor caracterizada dessa categoria (TRABULSI et al., 1999).

O bovino tem sido identificado como o principal reservatório de EHEC, uma vez que podem excretar o patógeno pelas fezes e assim contaminar alimentos, água e ambiente (SHERE et al., 1998; LAEGREID et al., 1999; EFSA, 2012; CONRAD et al., 2014) . A maioria dos surtos causados tem sido relacionados, principalmente, ao consumo de carne moída mal cozida (KARMALI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010). Atualmente também têm sido relatados surtos envolvendo alimentos não cárneos, como leite e seus derivados não pasteurizados, sucos de frutas não pasteurizados, alface, espinafre, legumes crus e brotos de semente (LUND; O'BRIEN, 2009; FENG, 2011).

Segundo Farrokh et al. (2013), como os ruminantes são portadores, pode-se afirmar que as DTA estão relacionadas diretamente ao consumo de leite e dos produtos lácteos, por fornecerem a estas bactérias, condições favoráveis para o seu crescimento, tornando-se assim uma fonte potencial.

As células bacterianas possuem a capacidade de adaptação no trato gastrointestinal de bovinos, as quais podem induzir o sistema de ácido resistência em *E. coli* patogênicas e não patogênicas. *E. coli* O157:H7 com sistema de ácido resistência induzido pode permanecer resistente ao ácido nos alimentos por um determinado período. Uma vez ingeridos através do alimento contaminado, os organismos ácido adaptados são capazes de sobreviver à defesa ácido gástrica do hospedeiro humano e colonizar o intestino através de competição com os organismos comensais. *E. coli* O157:H7 é considerado um dos sorotipos mais ácido

resistentes (CHUNG; BANG; DRAKE, 2006), sendo capaz de sobreviver em produtos lácteos fermentados, os quais apresentam pH baixo, tais como o iogurte e leite acidificado (GOVARIS; KOIDIS; PAPTAEODOROU, 2002).

E. coli O157: H7 Possui essa denominação, por apresentar o 157° antígeno somático (O) e o 7° antígeno flagelar (H) (TEIXEIRA, 2008). Essa cepa foi identificada nos EUA em 1982 como o agente responsável por surtos de colites enterohemorrágicas associados ao consumo de carnes de hambúrgueres mal cozidas e contaminadas (RILEY et al., 1983).

Apresenta temperatura ótima de crescimento de 37 °C, porém não ocorre crescimento em temperaturas abaixo de 8 a 10 °C e nem acima de 44 °C a 45 °C (FAO/WHO, 2003). No entanto, segundo Germano e Germano (2011), este sorogrupo pode sobreviver até nove meses a -20 °C, em carne moída, e resistir até 68 °C, podendo assim, sobreviver sob temperaturas de refrigeração e congelamento. Dessa forma, leites crus e derivados, contaminados após a pasteurização, podem representar um meio de sobrevivência e crescimento deste patógeno (GARCIA, 2006).

O leite cru foi reportado como um veículo de *E. coli* O157:H7, em 1986, quando crianças do Estado de Wisconsin nos EUA apresentaram quadros de colites enterohemorrágicas (CH) e de Síndrome Hemolítica Urêmica (SUH) após consumirem leite cru de fazendas leiteiras (MARTIN et al., 1986). Outros estudos realizados com leite cru e derivados verificaram a presença de *E. coli* O157:H7 em diversos países como na Malásia, Turquia e Brasil (OKSUZ et al., 2004; CHYE et al., 2004; BATISTA et al., 2014).

A dose infectiva da espécie *E. coli* O157 ainda é desconhecida. No entanto, por meio da compilação de dados de surtos investigados e da habilidade do microrganismo de ser transmitido de pessoa a pessoa, estima-se que a dose infectante encontre-se na faixa de 10 células por grama ou mililitro do alimento consumido (FDA, 2009).

O quadro de colite hemorrágica apresenta diarreia sanguinolenta profusa, dor abdominal intensa, e vômitos, com ausência de febre. Geralmente os sintomas surgem quatro dias após a ingestão do alimento contaminado, com variação de três até nove dias (GERMANO; GERMANO, 2011).

Em média 15 % das infecções por *E. coli* O157:H7, principalmente em crianças menores de cinco anos de idade e idosos, podem evoluir para SUH caracterizada pela destruição das células vermelhas do sangue e falência renal, a qual pode ser acompanhada de deterioração neurológica e insuficiência renal crônica (EDUARDO et al., 2002; SANCHES et al., 2010; FERNANDEZ-BRANDO et al., 2011). A SUH pode ser causada por outros patógenos, no entanto em 85% dos casos a doença ocorre depois de um episódio de

gastroenterite causada por EHEC, sendo *E. coli* O157:H7 responsável por 70% dos casos (PAULA et al., 2014).

O diagnóstico é realizado por meio da pesquisa de bactérias nas fezes do paciente e sua identificação através de métodos fenotípicos ou moleculares (TRABULSI; SAMPAIO, 1999).

Listeria monocytogenes

Dentre as espécies de *Listeria*, *L. monocytogenes* é a espécie de maior interesse para saúde pública, pois é patogênica para o ser humano e animais (SILVA, et al., 2001).

São bacilos Gram positivos, com 0,4 µm de diâmetro e 1 a 1,5 µm de comprimento, formadores de esporos, produzem catalase e não oxidase. Se apresentam móveis a temperatura de 25 °C, resultando em uma motilidade em forma de “guarda-chuva” (HITCHINS, 2003; RYSER; DONNELLY, 2001)

Trata-se de microrganismo ubíquo, que pode ser isolado do solo, água, silagem, plantas, esgoto, resíduos de abatedouro, leite de vacas sadias e com mastite, e em fezes de humanos e animais (MCCARTHY, 1990; FARBER; PETERKIN, 1991). Essa espécie é sensível à pasteurização (RYSER; DONNELLY, 2001) e resistente a condições ambientais adversas como baixo pH e altas concentrações de NaCl (ROCOURT; BUCHRIESER, 2007).

L. monocytogenes é causadora da listeriose, doença associada ao consumo de alimentos contaminados com o patógeno, contaminação do recém-nascido durante o parto, infecção cruzada no ambiente hospitalar e pelo contato de animais (MCLAUCHLIN, 2004). Segundo Goulet et al. (2008) entre os alimentos frequentemente associados à listeriose de origem alimentar estão leite cru ou pasteurizado, queijos, sorvetes, vegetais crus, carnes e derivados, aves, peixes e frutos do mar.

A listeriose se apresenta de duas formas, uma mais branda, que se apresenta como doença gastrointestinal autolimitada e não invasiva, caracterizada pelo desenvolvimento de febre, diarreia, náusea, vômito, dor de cabeça e mialgia, dentro de 12 a 24 horas após a exposição (SALAMINA et al., 1996). A segunda forma é mais grave, e compromete principalmente o sistema nervoso central, manifestando-se pelo aparecimento de meningite, encefalite e abscessos ou provocando aborto. Endocardites e osteomielites também podem ocorrer, mas são raras, sendo que o período de incubação pode variar de um dia a várias semanas (RYSER, 1999).

O primeiro relato de surto de listeriose associada ao consumo de alimentos ocorreu em 1979, em um hospital em Boston nos Estados Unidos. *L. monocytogenes* foi isolada em 20 pacientes internados após o consumo de verduras contaminadas, que foram preparadas no hospital (GAHAN; HILL, 2005). Outros surtos de listeriose envolvendo alimentos de origem vegetal e animal foram relatados, incluindo surtos causados por consumo de leite contaminado. Mais de 150 casos de listeriose, incluindo 54 mortes, foram relatadas pelo consumo de leite pasteurizado e queijo estilo mexicano contendo o patógeno nos Estados Unidos (JAY, 2005).

Catão e Ceballos (2001) em um estudo realizado com leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba, observaram que 33 (73,3%) das amostras de leite cru e 9 (30%) das de leite pasteurizado estavam contaminadas com *Listeria* spp., sendo identificadas *L. monocytogenes* em 17 (51,5%) amostras de leite cru e em 9 (100%) de leite beneficiado (4 recém-pasteurizadas e 5 ensacadas).

Um estudo realizado por Almeida et al. (2013), os quais avaliaram a qualidade microbiológica de 30 amostras de leite *in natura* e 30 de leite pasteurizado, provenientes da bacia leiteira do Médio Mearim no Estado do Maranhão, detectaram que 10 % (n=03) das amostras estavam contaminadas com *Listeria* spp.

Silva et al. (2003) em um estudo na Bahia, observaram a ocorrência de *L. monocytogenes* em 1% (2/218) das amostras avaliadas em duas indústrias processadoras de queijo tipo Minas frescal. A bactéria foi detectada no leite cru e no piso da sala de estocagem de leite em apenas uma das indústrias envolvidas no estudo.

Esper et al. em 2011 avaliaram a qualidade microbiológica de ricotas comercializadas na região de Campinas, São Paulo e caracterizaram o potencial patogênico das cepas isoladas de *Listeria monocytogenes*. Os mesmos detectaram a presença de *L. monocytogenes* em 6,7% (3/45) das amostras, as quais se apresentaram com perfil genético, potencialmente patogênico ao homem.

Com um número frequente de surtos provocados por microrganismos patogênicos presentes em leite e derivados é necessário um controle eficiente da contaminação na produção leiteira, desde sua produção até ao seu beneficiamento nos laticínios. (STEELE et al., 1997).

REFERENCIAS

ABLV. Associação Brasileira do Leite Longa Vida. Vendas de Leite Longa Vida crescem quase 4% no primeiro semestre de 2013. Disponível em:

<<http://www.ablv.org.br/implistcontentint.aspx?id=937&area=imp-not>>. Acesso em 20 de maio de 2015.

ALMEIDA, V. M.; PEREIRA, L. S.; COSTA, F. N. *Listeria* spp., coliformes, bactérias mesófilas e psicrotólicas no leite in natura e pasteurizado tipo C. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 72, n. 01, 2013.

ARAUJO, M. M. P.; ALVES, P. D. D.; BARBOSA, F. H. F.; ROSA, C. A. R. Qualidade higiênico- sanitária do leite e da água de algumas propriedades da bacia leiteira do município de Luz- MG. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Universidade Estadual da Paraíba- Brasil, v. 9, n. 02, 2009.

ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ANGELO, F.F. SOUZA, G.M. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Juiz de Fora – Minas Gerais, v. 58, n. 03, p.440-446, 2006.

ARIMI, S. M.; KOROTI, E.; KANGETHE, E. K.; OMORE, A. O.; MCDERMOTT, J. J. Risk of infection with *Brucella abortus* and *Escherichia coli* O157:H7 associated with marketing of unpasteurized milk in Kenya. **Acta Tropica**, Oxford, v. 96, n. 1, p. 1-8, 2005.

BARRETO, N. S. E.; SANTOS, G. C. F.; CREPALDI, A. L.; SANTOS, R. A. Qualidade microbiológica e suscetibilidade antimicrobiana do leite *in natura* comercializado em Cruz das Almas, Bahia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2315-2326, nov./dez. 2012.

BARROS, L. S. S.; SÓGLIA, S. L. O.; FERREIRA, M. J.; RODRIGUES, M. J.; BRANCO, M. P. C. Aerobic and anaerobic bacteria and *Candida* species in crude milk. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, V. 3, n. 8, p. 206-212, August. 2011.

BASSAN, J. C.; FABRÍCIO, L. F.; PAVARINA, L. C.; ROSELINO, M. N.; ROSSI, E. A.; CELIBERTO, L. S. Raw milk consumption in the city of Araraquara, São Paulo, Brazil. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 24, n. 4, p. 403-408, out./dez. 2013.

BASTOS, M. S. R. Leite longa vida UHT: Aspectos do processamento e identificação dos pontos críticos de controle. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66/67, p. 32-36, 1999.

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. 08, n. 2, p. 87-111, abr/jun. 2014.

BELOTI, V. **Leite clandestino: quem tem medo do lobo mau?** 2002. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/mn/>. 27 de janeiro de 2015.

BERGDOLL, M. S.; ROBBINS, R. N.; WEISS, R. N.; BORJAC, R.; HUANG, Y.; CHU, F.S. The staphylococcal enterotoxins. **Contributions to Microbiology and Immunology**, v.1, p.390-396, 1973.

BERSOT, L. S.; DAGUER, H.; MAZIERO, M. T.; PINTO, J. P. A. N.; BARCELLOS, V. CUNHA.; 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.

BRANDÃO, V. I.; TALMA, S. V.; MARTINS, M. L.; MARTINS, A. D. O.; PINTO, C. L. O. Qualidade do leite produzido no município de Rio Pomba, MG, com base em aspectos regulatórios. **Perspectivas online**. Campos dos Goytacazes, v.9, n. 3, p. 46-55, 2013.

BRASIL. Presidência da República. Decreto n.º 30.691 de 29 de março de 1952. Regulamenta a Lei n.º 1.283 de 18 de dezembro de 1950, que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 7 de julho 1952.

BRASIL. Ministério de Agricultura e Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. RISPOA. Brasília, 1980. 166p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.º 370, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Leite U.H.T (U.A.T). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N.º 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de janeiro de 2001.

BRASIL. Instrução Normativa n.º 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... **Diário Oficial da União**, Brasília, p.13-21. Set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 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, em conformidade com os Anexos desta Instrução **Normativa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 31 dez. 2011.

CARDOSO, L.; ARAÚJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em leite comercializados no Distrito Federal, no período 1997-2001. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 114-115, p. 34-40, 2003.

CARVALHO, M. P.; MORUZZI, M. M. Mercado lácteo: primeiros sinais de 2010. Disponível em < <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/panorama/mercado-lacteo-primeiros-sinais-de-2010-59941n.aspx>> Acesso em: 15 jun. 2010.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, S. O. *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e *E.coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 281-287, set.-dez. 2001.

CHUNG, H.J.; BANG, W.; DRAKE, M.A. Stress response of *Escherichia coli*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.5, p.52-64, 2006.

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

CLAEYS, W. L. S.; CARDOEN, G.; DAUBE, J.; BLOCK, K.; DEWETTINCK, K.; DIERICK, L.; ZUTTER, A.; HUYGHEBAERT, H.; IMBERECHTS, P.; THIANGE, Y.; VANDENPLAS.; HERMAN, L. Raw or heated cow consumption: Review of risks and benefits. **Food Control**, Oxford, v.31, n.1, p.251-262, 2013.

CONRAD, C. C.; STANFORD, K.; MCALLISTER, T. A.; THOMAS, J.; REUTER, T. Further development of sample preparation and detection methods for O157 and the top 6 non-O157 STEC serogroups in cattle feces. **Journal of Microbiological Methods**. v. 105, p. 22-30. 2014.

COSTA, S. P. S.; MARÇAL, F. C. A.; SILVA, P. J. Bacteriological quality of raw milk used for production of a Brazilian farmstead raw milk cheese. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.9, n.2, p.138-44, jan. 2012.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature Reviews Microbiology**. v.8, n. 1, p. 26-38, jan. 2010.

CUNHA, M. F.; BRANDÃO, S. C. C. A coleta a granel pode aumentar os riscos com as bactérias psicrotólicas. **Indústria de laticínios**. Jul/ago, p. 71-73, 2000.

DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington: **American Public Health Association**, 2001 . 676p

DOYLE, M.; SCHOENIJ, L. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Retail Fresh Meats and Poultry. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, n.10, p.2394-2396, out.1987.

EDUARDO, M. B.; MELLO, M. L. R.; KATSUYA, E. M. Síndrome Hemolítico Urêmica- Normas e Instruções. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, 2002. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/shu.pdf> Acesso em: 24 de abril de 2016.

European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2010. EFSA. v.10, p.2597. 2012

EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. 2. ed. São Paulo: **Editora Atheneu**, 2001. 652p.

ESPER, L. M. R.; KABUKI, D. Y.; KUAYE, A. Y. Qualidade microbiológica de ricotas comerciais e os riscos associados à presença de *Listeria monocytogenes*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**: São Paulo, v.70, n.4, p.554-559, 2011.

EUZÉBY, J.P. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus *Staphylococcus*. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/staphylococcus.html>> Acesso em: Janeiro de 2016.

FAGUNDES, C. M.; FISCHER, V.; SILVA, W. P.; CARBONERA, N.; ARAÚJO, M. R.M. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**: Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 568-572, 2006.

FAO /WHO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION. Risk profile for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* including the identification of the commodities of concern, including sprouts, ground beef and porks. In:

JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME /CODEX COMMITTEE ON FOOD HIGIENE, 35, 2003, Orlando. Circular... Orlando: Codex Alimentarius commission, 2003. Disponível em: www.codexalimentarius.net/download/report/117/A10313ae.pdf > Acesso em: 11 de maio de 2015.

FARBER, J. M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiological Reviews**, v. 55, n. 3, p. 476-511, 1991.

FARROKH, C.; JORDAN, K.; AUVRAY, F.; GLASS K.; OPPEGAARD, H.; RAYNAUD S.; THEVENOT, D.; CONDRON, R.; REU, K.; GOVARIS, A.; HEGGUM, K.; HEYNDRIKX M.; HUMMERJOHANN, J.; LINDSAY D.; MISZCZYCHA, S.; MOUSSIEGT, S.; VERSTRAETE, K.; CERF, O. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli*(STEC) and their significance in dairy production. **International Journal of Food Microbiology**, v.162, p.190–212. 2013.

FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Escherichia coli* O157:H7. In: _____. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. 2009. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm071284.htm> > Acesso em: 11 de maio de 2015.

FENG, P.; WEAGANT, S. D.; JINNEMAN, K. Diarrheagenic *Escherichia coli*. 2011. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm>> Acesso em: 22 de maio de 2015.

FERNANDEZ-BRANDO, R. J. Actualización en el tratamiento del síndrome uremico hemolítico endémico Patogenesis y tratamiento de la complicación sistémica más grave de las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. **MEDICINA**, Buenos Aires, v. 71, p. 383-389, 2011.

FRANCO, R. et al. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Revista Higiene Alimentos**, São Paulo, v. 11, n. 68, p. 70-77, 2000.

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

FSA, Food Standards Agency Disponível em: <<http://www.food.gov.uk/>> Acesso em: 24 de junho de 2015.

GAHAN, C. G. M.; HILL, C. Gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p. 1345-1353, 2005.

GALAN, V. B. Leite UHT: a necessidade de diferenciar para ter resultado. 2014. Disponível em: < <http://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/mercado/leite-uht-a-necessidade-de-diferenciar-para-ter-resultado-positivo-90351n.aspx> > Acesso em 30 de junho de 2015.

GARCIA, P. M. **Detecção de Escherichia coli O157: H7 em leite por um método convencional e por reação em cadeia da polimerase (PCR)**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. 4. ed. Barueri: **Manole**, 2011. 1034p.

GOULET, V.; HEDBERG, C.; LE MONNIER, A.; VALK, H. Increasing Incidence of listeriosis in France and Other European Countries. **Emerging Infectious Diseases**. v.14, n 5, 2008.

GOVARIS, A.; KOIDIS, P.; PAPTAEODOROU, K. Behaviour of *Escherichia coli* O157:H7 in sour milk, cows milk yogurt and ewes' milk yogurt. **Journal of Dairy Research**. v. 69, p.655- 660, 2002.

GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli* and the associated hemolytic uremic syndrome. **Epidemiology Review**. v.13, p.60-98, 1991.

GUIMARÃES, R. Importância da matéria-prima para a qualidade do leite fluido de consumo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102-103, p 25-34, 2002.

HAYES, M.C.; RALYEA, R.D.; MURPHY, S.C.; CAREY, N.R.; SCARLETTT, J.M.; BOOR. K.J. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk, **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 292-298, 2001.

HEIKENS E.; FLEER, A.; PAAUW, A.; FLORIJN, A.; FLUIT, A. C. Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. **Journal Clinical Microbiology**, v.43, n.5, p.2286-2290, may, 2005.

HILL, B.; SMYTHE, B.; LINDSAY, D.; SHEPHERD, J. Microbiology of raw milk in New Zealand. **International Journal of Food Microbiology**, v.157, p.305–308, 2012.

HITCHINS, A. D.; JINNEMAN, K. C.; YOSHITOMI, K. J.; BLACKSTONE, G. M. K.; THAMMASOUK, K.; JOHSON, J. M.; FEIST, M. D. Multiplex real – time PCR to simultaneously detect *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* from a variety of food enrichments. In: International Symposium on Problems of Listeriosis, 15, 2004. Uppsala, Sweden. Book of Abstract the XV ISOPOL, 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE: Estatística de produção pecuária, 2016.

ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS). Microorganismos de los alimentos. 1. Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Acribia. 1994. 804p.

JAY, J.M. Microbiologia de Alimentos. **Artmed**: Porto Alegre. 6ª.Ed. 2005.

JORGENSEN,H.J.; MORK,T.;HOGASEN, H.R.; RORVIK, L.M. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. **Journal of Applied Microbiology**. v. 99, p.158-166, 2005.

KARMALI, M. A.; GANNON, V.; SARGEAN, T. J. M. Verocytotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC). **Vet Microbiol**, v.140, n. 3, p. 360-370, 2009.

KAWANO, Y.; NISHIDA, T.; YAMAGISHI, R.; Noma, T. A case of milk allergy that presented anaphylaxis after cutaneous contact with allergen. **Allergology International**, v.50, n. 1, p.105-107, March, 2001.

LAEGREID, W. W.; ELDER, R. O.; KEEN, J. E. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in range beef calves at weaning. **Epidemiology and Infection**, v.123, n.2, p.291-298, 1999.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**. v. 2, n. 1, p. 63-76, jan. 2003.

LEITE, C. C.; GUIMARÃES, A. G.; ASSIS, P. N.; SILVA, M. D.; ANDRADE, C. S.O. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.3, n.1, p.21-25, 2002.

LORENZETTI, D. K. Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicrotóxicos no leite cru de dois estados da região Sul. 2006. 71f. Dissertação. (Mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LUND, B. M.; O'BRIEN, S. J. Microbiological safety of food in hospitals and other healthcare settings. **Journal of Hospital Infection**, v.73, n.2, p.109-200, 2009.

LYE, Y. L.; AFSAH-HEJRI, L.; CHANG, W. S.; LOO, Y. Y.; PUSPANADAN, S.; KUAN, C. H.; GOH, S. G.; SHAHRIL, N.; RUKAYADI, Y.; KHATIB, A.; JOHN, Y.H.T.; 2 NISHIBUCHI, M.; NAKAGUCHI, Y; SON, R. Risk of *Escherichia coli* O157:H7 transmission linked to the consumption of raw milk. **International Food Research Journal**, Serdang, v. 20, n. 2, p. 1001-1005, 2013.

MACIEL, J. F.; CARVALHO, E. A.; SANTOS, L. S.; ARAÚJO, J. B.; NUNES, V. S. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p. 443-448, jul/set, 2008.

MADIGAN, M. T.; OREN, A. Thermophilic and halophilic extremophiles. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, p. 265-269, 1999.

MAKITA, K.; DESISSA, F.; TEKLU, A.; ZEWDE, G.; GRACE, D. Risk assessment of staphylococcal poisoning due to consumption of informally-marketed milk and home-made yoghurt in DebreZeit, Ethiopia. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 153, n. 2, p. 135-141, 2012.

MARTIN, M. L.; SHIPMAN, L. D.; WELLS, J. G.; POTTER, M. E.; HEDBERG, K.; WACHSMUTH, K.; TAUXE, R. V.; DAVIS, J. P.; ARNOLDI, J.; TILLELI, J. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of haemolytic uremic syndrome. **Lancet**, v.2, p.1043, 1986.

MCCARTHY, S. A. *Listeria* in the Environment. In: Foodborne Listeriosis, A. J. MILLER, J. L. SMITH AND G. A. Somkuti (eds). **Elsevier**: New York. p. 25-29. 1990.

MCLAUCHLIN, J., MITCHELL, R.T.; SMERDON, W.J; JEWELL, K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 92, n. 1, p. 15-33, abr. 2004.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4. ed. Washington: **American Public Health Association** – APHA, 2001. 676p. Cap. 35, p. 331-341.

MHONE, T. A.; MATOPE, G.; SAIDI, P. T. Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy

farms of Zimbabwe. **International Journal of Food Microbiology** , n. 151 p. 223–228, 2011.

MIRANDOLA, A. Panorama atual da cadeia produtiva do leite no Brasil.2006.73f. Monografia (Especialização Latu Senso). Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2006.

MONTANHINI, M. T. M.; HEIN, K. K.; Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Piraí do Sul, Estado do Paraná, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 393, p. 10-14, jul./ago., 2013.

MOURA, R. L.; GUIMARÃES, F. R.; CONSALVES, H. E. O.; CARDOSO, B. B. Qualidade microbiológica de duas marcas de leite pasteurizado tipo C, comercializados no município de Quixaramobim-CE. **Revista Higiene Alimentar**, jul./ago, 2010.

NAKAZATO, G. et al., Virulence factors of avian pathogenic Escherichia coli (APEC). **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v.29, n.7, p.479-486, julho, 2009.

NASCIMENTO, M. S.; SOUZA, P. A. Estudo da correlação linear entre a contagem padrão em placa, a contagem de psicotróficos e prova da redutase em leite cru resfriado. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 97, p. 81-86, 2002.

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

NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; NETTO, D. P.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of Salmonella spp., Listeria monocytogenes and chemical residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, n.3, p. 211-215, 2004.

O'BRIEN, A.D.; LAVECK, G.D.; THOMPSON, M.R.; FORMAL, S.B. Producing of Shigella dysenteriae type-1 like cytotoxin by Escherichia coli. **Journal of Infectious Diseases**. v.146, p.763-769, 1982.

OKSUZ, O.; ARACI, M.; KURULTAY, S.; GUMUS, T. Incidence of Escherichia coli O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. **Food Control**, Amsterdam, v.15, p.453-456, 2004.

OLIVEIRA, A. B. O.; PAULA, C. M. D.,; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M. R. I.; TONDO, E. C. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA**, v.30, n.3, p.279-285, 2010.

OLIVEIRA, L. P.; BARROS, L. S. S.; SILVA, V. C.; CIRQUEIRA, M. G. Microbiological Quality and Detection of Antibiotic Residue in Raw and Pasteurized Milk Consumed in the Recôncavo Area of the State of Bahia, Brazil. **Journal Food Processing and Technology**, v.3, n.1, 2012.

ORDOÑEZ, J. A. Tecnologia de alimentos. São Paulo: Ed. **Artmed**, v. 1 e 2, 2005.

PADILHA, M. R. F.; FERNANDES, Z. F. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite tipo C comercializado no Recife-PE. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 105-109, 1999.

PAULA, C. M. D.; CASARIN, L. S.; TONDO, E. C. *Escherichia coli* O157:H7 — patógeno alimentar emergente. **Revista Vigilância Sanitária em Debate**, v.2, n.04, p.23-33, 2014.

PELCZAR, J. R. M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Microbiologia: conceito e aplicações. São Paulo: McGraw-Hill; 1997. v.2.

PEREIRA, F. E. V. **Isolamento e Caracterização de microrganismos em leite cru refrigerado e leite UHT no Estado de Goiás e desenvolvimento de filme ático antimicrobiano para inibição de *Bacillus sporothermodurans***. 2010. Dissertação. (Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Goiás.

PERILLO, J.; CECCARELLI, D.; SPAGNOLETTI, M.; LOLLAI, S.; CAPPUCCINELLI, P.; COLOMBO, M. M. Molecular characterization of enterotoxigenic and borderline oxacillin resistant *Staphylococcus* strains from ovine milk. **Food Microbiology**. v. 32, n.2, p.265-73, 2012.

PIETROWSKI, G. A. M.; OTT, A.P.; SIQUEIRA, C. R.; SILVEIRA, F. J.; BAYER, K. H.; CARVALHO, T. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Leite Pasteurizado Tipo C Comercializado na Cidade de Ponta Grossa-PR. In: VI Semana de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR. Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil. Anais da VI Semana de Tecnologia em Alimentos. UTFPR, 2008. v. 02, n. 36, ISSN: 1981- 366X.

QUINTANA, R. C.; CARNEIRO, L. C. Avaliação do leite in natura comercializado clandestinamente no município de Morrinhos, GO. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.65, n.3, p.194-198, 2006.

RAMOS, M. P. P.; PINTO, C. L. O.; CARVALHO, S. L.; CANGUSSÚ, L. V.; FREITAS, R. A.; LACERDA, J. S. J. Qualidade microbiológica e fatores que influenciam a produção de leite obtido de propriedades de base familiar no Município de São Mateus, ES. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.4, n.1, p.1-15, Julho, 2014.

REAL, C. G. A.; ALEGRO, L. C. A.; TURATE, M.; SILVA, L. C. C.; SOUZA, C. H. B.; SANTANA, E. H. W. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de leite UHT integral e determinação da proteólise durante armazenamento. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 394, p. 5-10, set/out., 2013.

REZER, A. P. S. Avaliação da Qualidade Microbiológica e Físico-Química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul. 2010, 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

RILEY, L.W.; REMIS, R.S.; HELGERSON, S.D.; MCGEE, H.B.; WELLS, J.G.; DAVIS, B.R.; HEBERT, R.J.; OKOTT, E.S.; JOHNSON, L.M.; HARGRETT, N.T.; BLAKE, P.A.; COHEN, M.L. Hemorrhagic Colitis Associated with a Rare Escherichia coli Serotype. **The New England Journal of Medicine**. v.308, p.681-685, 1983.

ROCHA, P. C. A, CUNHA.; L. M. M, MACHADO, A. V.; COSTA, R. O. Análises Microbiológicas do Leite e Tipos de Adultrações. **Revista Brasileira de Agrotecnologia (Garanhuns – PE - Brasil)**, v.5,n.1,p. 01-06, Jan-Dez, 2015.

ROCOURT, J.; BUCHRIESER, C. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy, and identification. In: RYSER, E.T.; MARTH, E.H. (Ed.). 3.ed. *Listeria, listeriosis and food safety*. Boca Raton: CRC Press, 2007. Chap. 1, p.1-20.

ROSENGREN, A.; FABRICIUS, A.; GUSS, B.; SYLVÉN, S.; LINDQVIST, R. Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. **International Journal of Food Microbiology**, n. 144, p. 263–269, 2010.

RYSER, E. T.; MARTH, E. H. *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1999. P.225-260.

RYSER, E.T; DONNELLY, C.W. Listeria. In: DOWNES, F.P; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. Ed. Whashington, DC: American Public Health Association (APHA), 2001, p. 343-356.

SAEKI, E.K.; MATSUMOTO, L.S. Contagem de mesofilos e psicotrópicos em amostras de leite pasteurizado e UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.65, n.37729-35, 2010.

SALAMINA G.; DONNE, E. D.; NICCOLINI, A.; PODA, G.; CESARONI, D.; BUCCI, M. A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. **Epidemiol Infect**, v.117, p.429-436, 1996.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PEREIRA, M. S. Microrganismos psicrotróficos em leite. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 88, p. 27-33, 2001.

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

SERRAINO, A., D.; FLORIO, F.; GIACOMETTI, S.; PIVA, D.; MION, R. G.; ZANONI, R. G. Presence of *Campylobacter* and *Arcobacter* species in in-line milk filters of farms authorized to produce and sell raw milk and of a water buffalo dairy farm in Italy. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2801–2807, 2013.

SHERE, J. A.; BARTLETT, K. J.; KASPAR, C. W. Longitudinal study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. **Appl Environ Microbiol**. v.64, n.4, p.1390-1399. 1998.

SILVA, I. M. M.; ALMEIDA, R. C. C.; ALVES, M. A. O.; ALMEIDA, P. F. Occurrence of *Listeria* spp. In critical control points and the environment of Minas frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 81, n. 03, p. 241-248, Mar., 2003.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: **Varela**, 2001. 317p.

SILVA, V. A.; RIVAS, P. M.; ZANELA, M. B.; PINTO, A. T.; RIBEIRO, M. R.; SILVA, F. P.; MACHADO, M. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru, do leite pasteurizado tipo A e de pontos de contaminação de uma Granja Leiteira no RS. **Acta scientiae Veterinariae**, v.38, n.1, p. 51-57, 2010.

SOOMRO, A. H.; ARAIN, M. A.; KHASKHELI, M.; BHUTTO, B. Isolation of *Escherichia coli* from raw milk and milk products in relation to public health sold under market condition at Tandojam. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.1, n.3, p.151–152, 2002.

STEELE, M. L.; McNAB, W. B.; POPPE, C.; GRIFFITHS, M. W.; CHEN, S.; DEGRANDIS, S. A.; FRUHNER, L. C.; LARKIN, C. A.; LYNCH, J. A.; ODUMERU, J. A. Survey of Ontario bulk tank raw milk from food-borne pathogens. **Journal of Food Protection**, v.60, n.11, p.1341-1346, 1997.

TEIXEIRA, J. P. **Efeito das proteínas do soro de leite sobre a colonização de *Escherichia coli* O157: H7 na mucosa intestinal de camundongos balb/c**. 2008. 48f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.; Microbiologia. 8 ed., Porto Alegre: **Artemed**, 2012, 934p.

TRABULSI, L. R.; SAMPAIO, M. M. C. Diarréia por *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). **Revista Estudos Avançados**, v.13, n.35, p. 116-7, 1999.

TRONCO, V. M. Manual para Inspeção de Qualidade do Leite. Santa Maria: Ed. UFSM, 2010. 203 p.

USDA. United States Department of Agriculture: Foreign Agricultural Service. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/> Acesso em janeiro de 2015.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Leche y productos lácteos. Zaragoza: Ed. **Acribia**, 1995. 452p.

VIEIRA, T.B. **Caracterização de *Escherichia coli* isolados de miúdos e carcaça com celulite por RAPD e detecção dos genes *iss* e *felA* por PCR**. 2010. 106f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2010.

XU, S. X.; MC CORMICK, J. K. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. v. 2, n. 52, p. 1-11, 2012.

WARRICK RESEARCH; ZENITH INTERNATIONAL. Mundial Aseptic Relatório Packaging 2015. Disponível em:

<http://www.zenithinternational.com/reports_data/210/Global%20Aseptic%20Packaging%20Report%202015> Acesso em: 15 de janeiro de 2016.

WESCHENFELDER, S.; PAIM, M. P.; GERHARDT, C.; WIEST, J. M. Avaliação da rotulagem nutricional e das características físico-químicas e microbiológicas de diferentes marcas de leite pasteurizado e leite UHT. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.73, n.1, p.32-38, 2016.

CAPÍTULO 2

**PREVALÊNCIA DE PATÓGENOS E QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA DE LEITE COMERCIALIZADO NO
RECÔNCAVO DA BAHIA.**

Artigo a ser submetido à Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira.

Prevalência de patógenos e qualidade microbiológica de leite comercializado no Recôncavo da Bahia.

Monique Lima dos Santos⁽¹⁾, Ludmilla Santana Soares Barros⁽¹⁾, Isabella de Matos Mendes da Silva⁽²⁾, Marcos Vinicius Andrade e Danuza das Virgens Lima⁽¹⁾

- (1) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Rua Rui Barbosa, 710 - Campus Universitário CEP 44380-000, Cruz das Almas/BA. monique_lsantos@hotmail.com, barros@ufrb.edu.br, yynny_sp@hotmail.com, danuza_lima22@hotmail.com
- (2) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Centro de Ciências da Saúde, Avenida Carlos Amaral, 1015 - Cajueiro, Santo Antônio de Jesus/BA, CEP 44.570-000. isbellamatos@yahoo.com.br

Resumo – O presente estudo objetivou avaliar a qualidade sanitária e a presença de patógenos de amostras de leite bovino informal e processado. No período de maio a julho de 2015 foram analisadas 55 amostras adquiridas em cinco municípios localizados no Recôncavo da Bahia. A contagem de microrganismos psicrotóxicos, mesófilos e termófilos foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade em meio ágar padrão de contagem e para a quantificação dos coliformes totais e *E.coli* foi utilizado o meio Hicrome™ seletivo ECC. A identificação da espécie *Escherichia coli* O157:H7 foi realizada utilizando o método rápido Singlepath®- *E. coli* O157. A população de *Staphylococcus aureus* foi estimada utilizando placas Petrifilm™ e a identificação da presença de *Listeria monocytogenes* por meio do kit Singlepath L'mono®. Foi evidenciada que houve maior contaminação e presença de patógenos no leite cru informal quando comparado ao leite processado. No entanto observou-se a presença de coliformes totais em 14,28 %, *Escherichia coli* em 7,14 % e *Escherichia coli* O157:H7 2,04% no leite processado. Sendo assim, salienta-se a importância dos órgãos competentes na fiscalização contra a comercialização informal do leite informal, assim como no acompanhamento das etapas de produção do leite processado até sua comercialização.

Termos para indexação: condições higiênico-sanitárias, indústria de laticínios, segurança dos alimentos.

Prevalence of pathogens and microbiological quality of milk marketed in the Bahia Recôncavo

Abstract – This study aimed to evaluate the sanitary quality and the presence of pathogens of informal bovine milk samples and processed. In the period from May to July 2015 were analyzed 55 samples acquired in five municipalities in the Bahia Recôncavo. The count of psychrotrophic, mesophilic and thermophilic was performed by plating method in depth among count standard agar and for the quantification of total coliforms and *Escherichia coli* was used through HiCrome™ selective ECC. The identification of the species *Escherichia coli* O157: H7 was performed using the fast method Singlepath®- *E. coli* O157. The population of *Staphylococcus aureus* was estimated using Petrifilm™ plates and identifying the presence of *Listeria monocytogenes* by means of Singlepath L'Mono® kit. It was evident

that there was a greater contamination and presence of pathogens in the informal raw milk when compared to processed milk. However it was observed the presence of total coliform 14.28 % *Escherichia coli* 7.14 % and *Escherichia coli* O157: H7 2.04 % in the processed milk. Therefore, it stresses the importance of authorities in enforcement against the illegal sale of informal milk, as well as the monitoring of milk production steps processed until marketing.

Index terms: sanitary conditions, dairy industry, food safety.

Introdução

Atualmente o Brasil é o quarto maior produtor de leite do mundo (USDA, 2015), apresentando uma aquisição de 24.049, 786 mil litros de leite cru em 2015. O Estado que apresentou maior produção foi Minas Gerais, apresentando um valor de 6.439,650 mil litros de leite. Nesse mesmo ano, o Estado da Bahia contribuiu com a produção de 332.449 mil litros em 2015, tornando-se o maior produtor da região Nordeste (IBGE, 2016).

No entanto às condições higiênicas deficientes durante os processos de obtenção, manipulação e conservação são as principais razões para diminuição da qualidade do leite produzido no Brasil (MENEZES et al., 2015), prejudicando o desenvolvimento econômico do país quanto a produção leiteira.

Embora a legislação não permita a comercialização do leite in natura, o seu consumo no Brasil é uma prática comum, a qual está associada a fatores culturais, regionais e sociais (BERSOT et al., 2010). Este hábito pode trazer sérios prejuízos à saúde do consumidor, uma vez que o leite é um excelente veículo para microrganismos patogênicos, responsáveis por diversas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (CLAEYS et al., 2013).

Buscando alternativas de comercializar um alimento mais seguro, quanto ao aspecto higiênico sanitário e aumento do tempo de prateleira, as indústrias de laticínios utilizam

processamentos térmicos que diminuem a carga microbiana inicial do leite cru, como a pasteurização e a Ultra High Temperature (UHT).

Todavia, estudos comprovam essa realidade da má qualidade do leite processado produzido no Brasil (WESCHENFELDER et al., 2016; PEREIRA et al., 2013; TAMANINI et al., 2011), a qual é influenciada não somente pela matéria prima, mas também pela falta de controle sanitário pós-processamento, principalmente no momento do envase do produto. Sendo assim, tornam-se imprescindíveis os cuidados com a contaminação do leite durante a ordenha e armazenamento, visando diminuir a multiplicação microbiana e obter-se um produto de qualidade (SALVADOR, 2012).

Diante da importância econômica que o leite representa no país, assim como o risco que o seu consumo pode ocasionar a população, vista ser um produto que favoreça a multiplicação microbiana, o presente estudo tem como objetivo avaliar a qualidade sanitária do leite cru informal e UHT, comercializados em cidades do Recôncavo da Bahia. Assim como ser um instrumento de alerta para os órgãos competentes quanto à importância da fiscalização nas propriedades leiteiras e no comércio da região.

Material e Métodos

No período de maio a julho de 2015, foram analisadas no total 55 amostras de leite bovino, das quais quatro amostras de leite informal e sete amostras de leite UHT integral de diferentes marcas nacionais de cada município. As amostras foram adquiridas por meio de compra em cinco municípios localizados no Recôncavo da Bahia (Cruz das Almas, Sapeaçu, Governador Mangabeira, Muritiba e São Felipe). Durante a coleta das amostras de leite UHT, a integridade física, hermeticidade e conformação das embalagens, assim como os lotes, foram considerados como critérios de seleção.

Após a coleta as amostras foram mantidas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, sendo imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Investigação Analítica de Alimentos e de Água do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

As embalagens de leite informal e UHT inicialmente foram lavadas com água e detergente neutro, secas com papel descartável branco, higienizadas com etanol a 70 % e homogeneizadas (invertendo-se 25 vezes). Previamente as amostras de leite UHT foram incubadas a 35-37 °C durante sete dias, segundo a legislação vigente (BRASIL, 1997; BRASIL, 2001).

Para a realização da contagem de microrganismos psicrotróficos, mesófilos e termófilos foi utilizada a técnica de plaqueamento em profundidade (*Pour plate*), a qual foi realizada com o meio de cultura Agar Padrão de Contagem (PCA), (APHA 1.05463.0500). Foi transferido 1 mL de cada diluição para placas de Petri esterilizadas contendo 25 mL do Ágar previamente fundido e aquecido a 43-45 °C. Após homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas em estufa em 7 °C/10 dias, 35 °C/48h, 50 °C/48h para psicrotróficos, mesófilos e termófilos respectivamente.

A quantificação dos coliformes foi realizada utilizando o meio Agar HiCrome™ Seletivo ECC - M1294 Himedia® (ISO 9001:2008). Toda a metodologia foi realizada conforme orientações do fabricante. Sendo consideradas colônias típicas de coliformes totais as colônias que apresentavam coloração salmão a vermelham e *Escherichia coli* colônias azul escuro a violeta.

A população de *Staphylococcus aureus* foi estimada por meio do método rápido em placas (3M Company) Petrifilm™ (AOAC 2003.11), as instruções foram seguidas conforme o fabricante. As colônias que se apresentaram na cor vermelho-violeta foram consideradas típicas de *S.aureus*.

Para análise de *E. coli* O157:H7 inicialmente foi realizada uma etapa de enriquecimento, as amostras foram adicionadas ao caldo de enriquecimento seletivo MTSB Novobiocina da MERCK™ e incubadas a 35 °C a 37 °C durante 18-24 horas (AHMED; SHIMAMOTO, 2014).

Para identificação da espécie *E. coli* O157:H7 foi utilizado o método rápido de rastreio imunológico Singlepath®- *E. coli* O157 da MERCK™ (AOAC 010407) e as instruções foram seguidas conforme orientações do fabricante. Os dispositivos de teste foram incubados à temperatura ambiente e observou-se o resultado do teste em 20 minutos imediatamente após aplicação da amostra ao dispositivo. O resultado da presença da cepa de *E. coli* O157:H7 foi considerado negativo quando somente uma linha vermelha apareceu na zona de controle (C) e considerada positiva quando as linhas vermelhas apareceram em ambos os testes (T) e de controle (C).

A identificação de *Listeria monocytogenes* foi realizada por meio do kit rápido Singlepath L'mono® da MERCK™ (1.04148.0001). Para o enriquecimento seletivo, as amostras de leite foram previamente adicionadas ao caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e incubadas a 29-30 °C durante 24 horas. Foi considerada positiva a presença de *Listeria monocytogenes* nos kits que apresentaram uma linha vermelha na zona teste (T) e na zona de controle (C) do dispositivo. E considerada negativo quando nenhuma linha vermelha apareceu na zona de teste (T), mas apareceu claramente na zona de controle (C).

A média do número de colônias contadas em todas as placas foi multiplicada pelo fator de diluição correspondente e os resultados foram expressos em log UFC/ mL (BRASIL, 2003).

A análise estatística foi realizada por meio do software SPSS versão 17. Por meio da análise descritiva foram calculadas as médias e desvio padrão das contagens de microrganismos encontradas.

As médias foram comparadas pelo teste T student para amostras independentes avaliando se há diferenças na quantidade de microrganismos segundo tipo de leite. . Para análise das categorias qualitativas foi utilizado o teste de qui-quadrado de Pearson. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significantes.

Resultados e Discussão

Como a comercialização do leite cru é ilegal, não existem parâmetros pela legislação para esse tipo de produto. Utilizando a Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011) para leite cru refrigerado utilizado para processamento, à presença de microrganismos mesófilos foi confirmada em 80,95 % das amostras, das quais 76,47 % estavam acima do valor permitido pela legislação de 5,87 log UFC/mL (BRASIL, 2011). Das cinco cidades avaliadas três apresentaram médias acima do valor aceitável (Tabela 1).

Tabela 1. Médias e variações das populações microbianas em amostras de leite cru comercializados informalmente em cidades do Recôncavo da Bahia 2015.

Microrganismos (log UFC/ mL)	Municípios					Legislação IN 62/2011
	A	B	C	D	E	
Mesófilos	9,17 (7,61 a 9,75)	8,7 (6,6 a 9,75)	6,34 (<1 a 8,75)	5,84 (<1 a 8,75)	5,13 (<1 a 5,13)	5,87
Psicrotróficos	7,11 (<1 a 9,75)	4,93 (4 a 5,48)	4,57 (<1 a 8,75)	3,80 (1,9 a 5,62)	2,18 (<1 a 2,18)	SD
Termófilos	6,17 (<1 a 6,17)	<1	<1	1,62 (<1 a 2,23)	<1	SD
Coliformes Totais	8,17 (5,86 a 9,75)	6,29 (5,21 a 6,94)	6,56 (4,18 a 8,75)	5,32 (1,6 a 8,75)	5,03 (<1 a 5,03)	SD
<i>E.coli</i>	2,35 (0,95 a 6,2)	1,63 (<1 a 1,95)	3,49 (<1 a 8,75)	1,85 (<1 a 1,85)	1,60 (<1 a 1,60)	SD

Fonte: Dados da pesquisa SD: Valores sem determinação na legislação.

A alta população de microrganismos mesófilos no leite informal analisado pode ser atribuída a prováveis inadequações sanitárias durante a ordenha e principalmente pela ausência de refrigeração no transporte, armazenamento e comercialização desse produto. Foi observado durante a coleta que grande parte das amostras eram comercializadas sem refrigeração, contribuindo diretamente para a proliferação de microrganismos mesófilos, vista que sua temperatura ideal para crescimento encontra-se em torno da temperatura ambiente.

Silva et al. (2010) avaliaram a qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de uma Granja Leiteira no Rio Grande do Sul e verificaram que das seis amostras analisadas do leite, três estavam acima dos valores preconizados em Brasil (2011) para microrganismos mesófilos. Assim como o atual estudo, Silveira e Bertagnolli (2014) analisaram a qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS, detectaram que três das dez amostras analisadas estavam em desacordo com os parâmetros da Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002 para microrganismos mesófilos em leite refrigerado.

Em contrapartida, as amostras de leite UHT estavam de acordo com a Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, que considera aceitável valores até 2 log UFC/mL para mesófilos. Um estudo realizado por Frata et al. (2014) apresentou resultados semelhantes, em que todas as amostras analisadas apresentaram-se dentro do limite máximo para mesófilos em leite UHT. No entanto DOMARESKI et al. (2010) ao avaliarem leites UHT comercializados em três países do Mercosul, sendo eles Brasil, Argentina e Paraguai, encontraram, respectivamente 37,5%, 62,5% e 12,5% de bactérias aeróbias mesófilas presentes no produto estando em desacordo com os critérios microbiológicos estabelecidos para o leite UHT.

A temperatura de armazenamento associada ao tipo e carga microbiana inicial são parâmetros que contribuem para proliferação de bactérias durante o armazenamento do leite cru, mesmo quando este é submetido a baixas temperaturas. O leite cru, quando submetido a

baixas temperaturas por longos períodos pode apresentar microrganismos psicotróficos e sua concentração no leite pode estar associada às condições de obtenção do produto.

A legislação brasileira (BRASIL, 2001; 2011) não estabelece um limite máximo permitido de microrganismos psicotróficos e termófilos, porém de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1980), o leite deve apresentar no máximo 10% de microrganismos psicotróficos e termófilos em relação à contagem total de mesófilos.

Seguindo essa recomendação, somente 9,52 % das amostras de leite cru se apresentaram com os padrões ideais para microrganismos psicotróficos no presente estudo. Zeni et al. (2013) verificaram a incidência de microrganismos psicotróficos e mesófilos no leite cru destinado à produção de leite UHT. As amostras de leite cru refrigerado mostraram contagens para mesófilos e psicotróficos acima de 6 log UFC/mL, valores estes que podem interferir na qualidade e no tempo de vida de prateleira do produto final.

Normalmente o leite cru apresenta poucos microrganismos termófilos, no entanto o atual estudo obteve valores divergentes da literatura, pois os municípios A e D apresentaram contagem desse microrganismo no leite cru com médias de 6,17 log UFC/mL e 1,62 log UFC/mL respectivamente, representando 14,28 % das amostras que estavam acima de 10 % quanto aos microrganismos mesófilos, estando em desacordo com a legislação (BRASIL, 1980). No leite UHT houve multiplicação microbiana de <1 log UFC/mL em todas as amostras.

Quanto à quantificação de coliformes totais no leite cru, 90,47 % das amostras apresentaram-se acima de 5 log UFC/ mL. Embora não exista limite máximo permitido para coliformes totais em leite cru pela legislação sanitária vigente, considera-se uma alta carga microbiana nas amostras avaliadas. A presença desse grupo de microrganismos indicam

falhas no controle higiênico do produto, assim como a possível presença de microrganismos patogênicos.

Corroborando com os resultados do atual estudo, Dias et al. (2015) avaliaram as condições higiênico-sanitárias de leite cru comercializado em mercados públicos no norte do Piauí e 100 % das 16 amostras analisadas de leite cru apresentaram-se positivas para coliformes totais e termotolerantes.

Em um estudo realizado na cidade de Solânea, na Paraíba, por Amaral e Santos (2011), as amostras de leite cru comercializadas por ambulantes apresentaram valores superiores a 1.100 NMP/mL de coliformes totais e termotolerantes. Outro estudo com resultados semelhantes foi desenvolvido por Maciel et al. (2008), os quais analisaram 30 amostras de leite cru informal e todas as amostras apresentaram presença de coliformes totais.

Os municípios A e B apresentaram médias de população de coliformes totais no leite UHT de 0,87 log UFC/mL e 2,25 log UFC/mL respectivamente. Dessa forma esses produtos foram considerados impróprios para o consumo, haja vista que de acordo com a Portaria nº 370 de 04 de setembro de 1997, o leite UHT não deve conter microrganismos capazes de se proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição, após uma incubação na embalagem fechada a 25-37 °C, durante sete dias.

Segundo Menezes et al. (2015) o manejo higiênico da ordenha, a lavagem e desinfecção de utensílios e equipamentos são também fundamentais para evitar a contaminação do leite por coliformes. Sendo assim, é de suma importância que haja treinamento com os produtores leiteiros quanto às condições higiênicas em todas as etapas de obtenção e comercialização do leite cru, visando garantir a qualidade sanitária do produto que será usado para industrialização.

A presença de *E. coli* foi detectada em amostras de leite cru de todos os municípios, com variação de <1 e 1,64 log UFC/ mL e no leite UHT somente em um município com média de 1,46 log UFC/ mL. Sua presença e população elevada no leite são de grande importância para saúde pública, pois esse microrganismo é considerado como o principal indicador de contaminação de origem fecal, além de existirem cepas patogênicas.

Por meio da análise microbiológica do leite cru, foi evidenciada a presença de *Staphylococcus aureus* em 76,19 % das amostras avaliadas, com variação da população de <1 a 9,0 log UFC/ mL. No leite UHT as amostras analisadas apresentaram valores inferiores a <1 log UFC/ mL. Ao realizar-se a análise de comparação de médias através do teste T student, verificou-se que houve diferença estatística em relação ao leite *in natura* e o leite UHT, considerando o leite *in natura* com maior contaminação ($p < 0,05$).

Embora não exista um limite máximo permitido para *Staphylococcus aureus* em leite cru, sabe-se que a presença desse microrganismo está associada à má higienização das mãos dos manipuladores, utensílios utilizados durante a ordenha, más condições de armazenamento, transporte e comercialização. Esses possíveis meios de contaminação foram observados durante a coleta das amostras. Algumas se encontravam em recipientes inapropriados, sem identificação e apresentando sujidades, outras não estavam refrigeradas, o que pode ter contribuído para a multiplicação desse microrganismo na maioria das amostras.

Quando observada a média da contagem das populações de *S.aureus* nos municípios pode-se concluir que estes apresentaram valores semelhantes, demonstrando que a presença e a população elevada de *S.aureus* é comum no leite cru informal (Tabela 2).

Tabela 2. Médias e variações das populações de *Staphylococcus aureus* encontradas em amostras de leite cru comercializados informalmente em cidades do Recôncavo da Bahia, 2015.

Microrganismos (log UFC/ mL)	Municípios					Legislação IN 62/2011
	A	B	C	D	E	
<i>Staphylococcus</i>	6,06	2,70	2,69	2,04	3,12	SD

<i>aureus</i>	(3,54 a 9,75)	(1,78 a 4,18)	(<1 a 4,13)	(<1 a 2,04)	(<1 a 3,12)
---------------	---------------	---------------	-------------	-------------	-------------

Fonte: Dados da pesquisa SD: Valores sem determinação na legislação.

Corroborando com os resultados do presente estudo foi realizada um pesquisa que avaliou a qualidade microbiológica do leite cru, comercializado informalmente na cidade de Areia (PB) e foi observado que 80 % das amostras estavam contaminadas por *Staphylococcus sp*, sendo que em 30 % delas presumiu-se tratar de *S. aureus* (SOUZA; NOGUEIRA; NUNES, 2011). Alves et al. (2009) avaliaram a qualidade microbiológica do leite cru comercializados informalmente na cidade de São Luís (MA), e detectaram a presença de cepas de *Staphylococcus coagulase positiva* em 31,0 % das amostras.

Em relação ao leite UHT, resultados semelhantes foram encontrados por Nascentes e Araújo (2012) em trabalho que objetivou realizar a comparação da qualidade microbiológica de leite cru, pasteurizado e UHT comercializados na cidade de Patos de Minas (MG), observou que 100 % das amostras leite cru analisadas estavam contaminadas por *S.aureus*, enquanto nenhuma das amostras apresentou crescimento desse microrganismo no leite UHT.

Quanto a presença de *E.coli* O157:H7 em amostras de leite cru e UHT foi constada a presença em 6,12 % e 2,04 %, respectivamente, sendo um potencial risco ao consumidor, pois se trata de uma cepa patogênica. Verificou-se a partir da análise das categorias qualitativas pelo o teste de qui-quadrado de Pearson, que não houve diferença significativa entre os tipos de leite estudados quanto a presença de *E.coli* O157:H7 ($p>0,05$).

Por se tratar de um microrganismo sensível aos danos causados pelo calor, este pode ser facilmente destruído durante o seu processamento, no entanto a contaminação pós-processamento pode ocorrer, devido a sua capacidade de formar biofilmes e, assim, estar presente nos utensílios e equipamentos. Segundo Pillai e Jesudhasan (2006), a capacidade de *E.coli* O157:H7 em formar biofilme pode ser atribuída ao sinal auto-indutor-2 (AI-2), envolvido na regulação dos genes da quimiotaxia, síntese flagelar e motilidade.

Batista et al. (2014) avaliando os parâmetros higiênico-sanitário do leite cru em vinte e seis propriedades do Recôncavo da Bahia (BA), encontraram uma amostra positiva de *E.coli* O157:H7.

Esses dados justificam a importância de estudos permanentes com leite cru e processado, que enfatizem a necessidade da não comercialização do leite informal diretamente para o consumidor, assim como os cuidados higiênicos durante o pós-processamento do leite.

Salienta-se que a presença da *E. coli* O157:H7 no leite UHT é ainda mais preocupante, pois se trata de um alimento submetido a processamento de esterilização comercial, no qual o consumidor pode ser um possível alvo de contaminação por esse microrganismo patogênico, por adquirir um alimento inseguro.

Quanto a análise de *Listeria monocytogenes*, o resultado de todas as amostras de leite estudadas foram negativos. Em estudo que objetivou analisar a presença de *Listeria* spp. em leite cru e pasteurizado, 10 % das amostras do leite cru apresentaram contaminação por esse microrganismo e nenhum das amostras de leite pasteurizado apresentou presença (ALMEIDA; PEREIRA; COSTA, 2013).

Embora os resultados deste estudo sejam negativos quanto a presença de *Listeria monocytogenes*, sabe-se que a sua presença no leite é preocupante, pois trata-se de um microrganismo altamente patogênico responsável por surtos de listeriose disseminados pelo mundo. A ausência de detecção desse microrganismo patogênico também pode estar relacionada com a baixa capacidade de competição por nutrientes que o mesmo apresenta, podendo estar presente, porém não detectável.

Dessa forma considerando todos os aspectos avaliados e os resultados encontrados dos microrganismos indicadores da qualidade sanitária e patogênicos no leite cru informal nos municípios avaliados, as amostras analisadas estão em desacordo com a legislação utilizada

para leite cru refrigerado (BRASIL, 2011), no que tange aos aspetos microbiológicos. Sendo um risco à saúde pública podendo veicular surtos de DTA.

A implantação de Boas Práticas de manipulação deve ser realizada pelos produtores, objetivando reduzir os problemas ocasionados pela obtenção e manipulação incorreta do leite cru nas fazendas, assim como no armazenamento, transporte e comercialização do produto final, após o processamento adequado. Medidas eficientes de erradicação da comercialização do leite cru também devem ser tomadas pelos órgãos públicos competentes, já que não deve haver a comercialização desse produto diretamente para o consumidor.

Quanto à qualidade microbiológica das amostras de leite UHT comercializados nos municípios avaliados, foi possível constatar que algumas amostras se encontravam impróprias o consumo, possivelmente pela contaminação microbiana pós-processamento, inclusive de patógenos como *E.coli* e *E.coli* O157:H7.

No presente estudo, o fato dos microrganismos estudados não serem resistentes a temperaturas extremas, como no processamento do leite UHT, sugere-se que as amostras que apresentaram contagem e presença de microrganismos patogênicos, foram contaminadas pós-processamento térmico, no momento do envase ou por meio de biofilmes presentes nos equipamentos, ou que o processamento foi ineficiente. Segundo Vittori et al. (2008) a contaminação pós-processamento pode ser decorrente da deficiência na esterilização das embalagens ou de uma recontaminação provocada pelos manipuladores.

O surgimento de biofilmes em ambientes de processamento de leite contribui para aumento da probabilidade de contaminação microbiana dos produtos lácteos processados, podendo conter microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos (MARCHAND et al., 2012).

A má qualidade do leite cru utilizado como matéria prima e problemas na preservação durante a comercialização também podem resultar em contaminação microbiana no leite

processado, havendo chances de deterioração do leite muito antes do que o tempo de preservação recomendado (DEY; KARIM, 2013).

Sendo assim, é necessário que a indústria produtora de leite processado garanta a qualidade do produto por meio do controle sanitário durante todas as etapas de processamento, desde a obtenção da matéria prima até a sua comercialização.

Conclusões

1. O leite cru comercializado informalmente é um perigo para os consumidores, vista a presença de altas taxas de microrganismos indicadores e patogênicos nele encontrados.
2. Quanto ao leite UHT conclui-se que pode ter ocorrido uma falha de controle sanitário pós-processamento que ocasionou a presença de cepas de coliformes totais, *E.coli* e *E.coli* O157:H7 no leite comercializado.
3. Houve resultados negativos para *L. monocytogenes* em todas as amostras analisadas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão de bolsa de estudos.

Referências

AHMED, A. M.; SHIMAMOTO, T. Isolation and molecular characterization of Salmonella enterica, *Escherichia coli* O157:H7 and Shigella spp. from meat and dairy products in Egypt. **International Journal of Food Microbiology**, v.168-169, p.57-62, 2014.

ALMEIDA, V. M.; PEREIRA, L. S.; COSTA, F. N. *Listeria* spp., coliformes, bactérias mesófilas e psicrotróficas no leite in natura e pasteurizado tipo C. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.1, p.14-19, 2013.

ALVES, L. M. C.; AMARAL, L. A.; CORRÊA, M. R.; SALES, S. S. Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís – MA. **Pesquisa em Foco**, v. 17, n.2, p. 01-13, 2009.

AMARAL, C. R. S.; SANTOS, E. P. Leite cru comercializado na cidade de Solânea, PB: caracterização físico-química e microbiológica. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.1, p.7-13, 2011.

BATISTA, A. S.; BARROS, L. S. S.; SANTOS, E. S. V.; SILVA, M. H. *Escherichia coli* O157: H7 em leite produzido no Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 08, n. 2, p. 87-111, abr/jun. 2014.

BERSOT, L. S.; DAGUER, H.; MAZIERO, M. T.; PINTO, J. P. A. N.; BARCELLOS, V. CUNHA.; 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. Ministério de Agricultura e Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. RISPOA. Brasília, 1980. 166p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Leite U.H.T (U.A.T). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N.º 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n.º62, de 26 de agosto de 2003. Métodos

analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set., 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 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, em conformidade com os Anexos desta Instrução **Normativa**. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 31 dez. 2011.

CLAEYS, W. L. S.; CARDOEN, G.; DAUBE, J.; BLOCK, K.; DEWETTINCK, K.; DIERICK, L.; ZUTTER, A.; HUYGHEBAERT, H.; IMBERECHTS, P.; THIANGE, Y.; VANDENPLAS.; HERMAN, L. Raw or heated cow consumption: Review of risks and benefits. **Food Control**, Oxford, v.31, n.1, p.251-262, 2013.

DIAS, J. N.; FONTINELE, L. L.; MACHADO, S. M. O.; OLIVEIRA, J. S.; FERREIRA, G. P.; PEREIRA, A. C. T. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de leite cru e queijo coalho comercializados em mercados públicos no norte do Piauí. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.8, n.2, p277-284, 201

DOMARESKI, J.L.; BANDIERA, N.S.; SATO, R.T.; ARAGON, L.C.; SANTANA, E.H.W. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 60, n. 3, p. 261-269, 2010.

FRATA, M. T.; BACHI, A. J.; OLIVEIRA, J. G.; SCHNEIDER, A. E. Estudo da Qualidade Microbiológica e Físico-Química de Leites UHT Comercializados no Município de Dois Vizinhos – PR. **Blucher Food Science Proceedings**. Nov.2014, v.1, n. Disponível em: www.proceedings.blucher.com.br/evento/microal

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE: Estatística de produção pecuária, 2015.

MACIEL, J. F.; CARVALHO, E. A.; SANTOS, L. S.; ARAUJO, J. B., NUNES, V. S. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.09, n.03, p.443-448, jul./set. 2008.

MARCHAND, S. et al. Heterogeneity of heat resistant proteases from milk *Pseudomonas* species. **International Journal of Food Microbiology**, v.133, n.1, p.68-77, 2009.

MENEZES, I. R.; ALMEIDA, A. C.; MORÃO, R. P.; REIS, S. V.; SANTOS, C. A.; LOPES, I. L. N. Qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais. **Revista brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 58-63, jan./mar. 2015.

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**, v.9, n.1, p.212-223, 2012.

PEREIRA, J. R.; TAMANINI, R.; RIOS, E. A.; OLIVEIRA, V. H. S.; YAMAMURA, A. A. M.; BELOTI, V.B. Microbiota mesófila aeróbia contaminante do leite UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.68, n. 394, p. 25-31, set/out., 2013.

PILLAI, S. D.; JESUDHASAN, P.R. Quorum sensing: how bactéria communicate. **Food Technology**, v.60, p.42-50, 2006.

SALVADOR, F. C.; BURIN, A. S.; FRIAS, A. A. T.; OLIVEIRA, F. S.; FAILA, N. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e Região. **Revista F@ciência**, Apucarana-PR, v.9, n. 5, p. 30 – 41, 2012.

SILVA, V. A.; RIVAS, P. M.; ZANELA, M. B.; PINTO, A. T.; RIBEIRO, M. R.; SILVA, F. P.; MACHADO, M. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru, do leite pasteurizado tipo A e de pontos de contaminação de uma Granja Leiteira no RS. **Acta scientiae Veterinariae**, v.38, n.1, p. 51-57, 2010.

SILVEIRA, I. A. Influência dos microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado. Uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 55, p. 21-26, maio 1998.

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 Vigilância Sanitária e Debate**, v.2, n.2, p.75-80, 2014.

SOUZA, F. M.; NOGUEIRA, M. S.; NUNES, F. C. Qualidade microbiológica do leite cru comercializado informalmente na cidade de Areia-PB. **Agropecuária Técnica**, v. 32, n. 1, p 168–171, 2011.

TAMANINI, R.; BELOTI, V.; RIBEIRO JUNIOR, J. C.; SILVA, L. C. C. YAMADA, A. K.; SILVA, F. A. Contribuição ao estudo da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.66, n.382, p.27-33, Set/Out 2011.

USDA. United States Department of Agriculture: **Foreign Agricultural Service**. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/> Acesso em janeiro de 2015.

VITTORI, J.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; POIATTI, M. L.; PIGATTO, C. P.; CHIODA, T. P.; RIBEIRO, C. A. M.; GARCIA, G. R.; RAGAZANI, A. V. F. Qualidade microbiológica de leite UHT caprino: pesquisa de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v.38 n.3, May/June 2008.

WESCHENFELDER, S.; PAIM, M. P.; GERHARDT, C.; WIEST, J. M. Avaliação da rotulagem nutricional e das características físico-químicas e microbiológicas de diferentes marcas de leite pasteurizado e leite UHT. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.73, n.1, p.32-38, 2016.

ZENI, M. T. et al. Influência dos microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. **Unoesc & Ciência ACET**, v. 4, n. 1, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados encontrados a partir da análise microbiológica do leite bovino comercializado no Recôncavo é possível concluir que a comercialização informal do leite *in natura* é um risco a população, pois se trata de um alimento com baixa qualidade sanitária e com altas taxas de microrganismos patogênicos. Além disso, foi possível verificar a presença de coliformes totais e *E.coli* e *E.coli* O157:H7 em amostras de leite UHT, sugerindo-se que pode ter ocorrido uma falha de controle sanitário pós-processamento, o que ocasionou a presença desses microrganismos no leite comercializado, tornando-o inseguro o seu consumo.

Dessa forma, esses resultados salientam a importância da proibição da comercialização do leite *in natura* pelos órgãos competentes, assim como no acompanhamento das etapas de produção do leite UHT, ressaltando a necessidade da utilização das boas práticas de higiene durante o seu beneficiamento até sua comercialização, visando à produção segura do alimento.

ANEXOS

Normas para Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumen, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.

- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.

- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.

- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que compoñham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus ou no Índice de Assuntos da base SciELO .

Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.

- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.

- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

- Teses

HAMADA, E. Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: . Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.
- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses
- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.

- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.

- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Outras informações

- Não há cobrança de taxa de publicação.
- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.
- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231, via e-mail: sct.pab@embrapa.br ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB

Caixa Postal 040315 CEP 70770 901 Brasília, DF