

Qualidade Microbiológica do Leite *in natura* comercializado na cidade de Castro Alves-BA

Microbiological Quality of raw milk marketed in Castro Alves-BA

Roque Jairo Oliveira Rogrigues¹, Marinalva Estacio de Barbosa Sant'anna², Soraia Machado Cordeiro³, Darcy Pires de Matos Pinheiro⁴, Dellane Martins Tigre⁵

¹Graduado em Farmácia., União metropolitana de educação e cultura (UNIME), Lauro de Freitas, Bahia. ²Docente. Curso de Farmacia. União metropolitana de educação e cultura (UNIME), Lauro de Freitas, Bahia. ³Docente. Curso de Farmácia. Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia. ⁴Docente. Curso de Medicina Veterinária. UNIME União Metropolitana de Educação e Cultura, Lauro de Freitas, Bahia. ⁵Departamento de Ciências Biológicas, Área de Biomedicas. UESB Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Feira de Santana, Bahia

Resumo

Introdução: O leite é um alimento com excepcional valor nutritivo, amplamente consumido pela população mundial, entretanto, é também um excelente meio de cultura para muitos micro-organismos. A existência de problemas relacionados às condições higiênicas deficientes durante os processos de obtenção, manipulação e conservação são as principais razões para a perda de qualidade do leite. **Objetivo:** Considerando a importância que o leite assume na alimentação humana, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru, obtido por ordenha manual, comercializado na cidade de Castro Alves, Bahia, e comparar os resultados com os valores estabelecidos pela RDC Nº 12 que regulamenta os padrões microbiológicos para alimentos. **Metodologia:** Foram analisadas 20 amostras de leite cru, de janeiro a maio de 2011. Após a recepção das amostras junto aos comerciantes da região, estas foram acondicionadas, sob-refrigeração, e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos para determinação dos coliformes totais e fecais, isolamento de *Escherichia coli*, contagem de *Staphylococcus aureus* e detecção direta de *Salmonella*. **Resultados:** Todas as amostras analisadas (100%) apresentaram valores elevados de coliformes totais, e coliformes fecais acima dos preconizados pela legislação. Seis amostras (30%) confirmaram a presença de *E. coli*, um importante enteropatógeno de origem fecal. Também foi evidenciado que 6 amostras estavam contaminadas com *S.aureus*. *Salmonella* spp. foi encontrada em 5 amostras (25%), micro-organismo esse que deve estar ausente em qualquer alimento destinado ao consumo humano. **Conclusão:** Os resultados encontrados nesta pesquisa demonstraram que a qualidade microbiológica do leite analisado esta insatisfatória, uma vez que nenhuma amostra atendeu aos requisitos estabelecidos pela legislação, principalmente devido a elevada contagem de coliformes fecais e presença de *Salmonella* spp. Tais achados constituem-se um motivo de preocupação em saúde pública, sobretudo, em função do risco representado pelo consumo desse produto pela população.

Palavras-chave: Produtos Lácteos. Controle de qualidade. Coliformes. Patógenos

Abstract

Background: Milk is a food of exceptional nutritional value, widely consumed by the population; however, is also an excellent culture medium for many microorganisms. The existence of problems related to poor hygienic conditions during the process of obtaining, handling and storage are the main reasons for the loss of milk quality. **Objective:** Considering the importance that milk takes in food, took place this work in order to assess the microbiological quality of raw milk obtained by milking, marketed in the city of Castro Alves, Bahia, and compare the results with the values established by RDC No. 12, which regulates the microbiological standards for foods. **Methodology:** We analyzed 20 samples of raw milk, from January to May 2011. After acquiring the samples along with local businessmen, they were placed under-cooling, and sent to the Food Microbiology Laboratory to determination of total and fecal coliforms, *Escherichia coli* isolation, *Staphylococcus aureus* on plates and direct detection of *Salmonella*. **Results:** All samples (100%) showed elevated levels of total coliforms and fecal coliforms above those recommended by the legislation. Six samples (30%) confirmed the presence of *E. coli*, an important enteropathogen of fecal origin. It was also shown that six samples were contaminated with *S. aureus*. *Salmonella* spp. was found in 5 samples (25%), the microorganism should be absent in other foods for human consumption. **Conclusion:** The findings of this study demonstrated that the microbiological quality of milk is considered unsatisfactory, since no sample meets the requirements established by legislation, mainly due to high fecal coliform counts and the presence of *Salmonella* spp.. These findings constitute a cause for concern in public health, mainly due to the risk posed by consumption of this product by the population.

Keywords: Dairy Products. Quality Control. Coliforms. Pathogens.

INTRODUÇÃO

Leite é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002). É um alimento com excepcional valor nutritivo e amplamente

Recebido em 11/01/2012; revisado em 29/02/2012.

Correspondência / Correspondence:

consumido pela população mundial, entretanto, é também um bom meio de cultura para muitos micro-organismos. Logo, a existência de problemas relacionados a condições higiênicas deficientes durante os processos de obtenção, mani-pulação e conservação é uma das principais razões para a perda de qualidade do leite (ROSA; QUEIROZ, 2006). Segundo Franco e Langraf (1996), os principais grupos de micro-organismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos e os coliformes.

A concentração de micro-organismos mesófilos no leite indica a qualidade em que o alimento foi obtido ou processado, e sua presença em altas contagens é indicativa de procedimento higiênico inadequado (TAMANINI *et al.*, 2007).

Os coliformes são patógenos muito difundidos e encontrados numa grande quantidade de alimentos. A presença desses micro-organismos no leite cru é frequentemente atribuída às práticas precárias de higiene durante a ordenha (MORENO *et al.*, 1999).

O *Staphylococcus aureus* é o agente mais comum nas infecções patogênicas causadas por este gênero e a presença desse micro-organismo no leite é uma indicação de inflamação do úbere do animal e também de falhas na pasteurização. A importância da constatação do *S. aureus* em alimentos se relaciona às toxinas produzidas por esses micro-organismos, as quais podem trazer sérios distúrbios à saúde do consumidor (OLIVEIRA; CARUSO, 1996).

As salmonelas são transmitidas ao homem através da ingestão de alimentos contaminados com fezes animais, sendo que a manipulação desses alimentos por pessoas contaminadas também podem causar sua contaminação. Conforme a legislação brasileira em vigor, o alimento que for determinado presença de *Salmonella* encontra-se impróprio para consumo humano (MILLER, 2008).

Apesar da proibição legal imposta à comercialização do leite *in natura* no Brasil (Lei Nº 1.283 de 18/12/50 e Decreto Nº 30.691 de 29/03/52), a venda desse tipo de leite tem sido realizada livremente na periferia da cidade de Salvador, assim como em numerosas cidades do Estado (BADINE, *et al.*, 1996; BRASIL, 1950; BRASIL, 1952).

Considerando a destacada importância que o leite assume na alimentação humana, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite *in natura* comercializado na cidade de Castro Alves, na Bahia (BA).

MATERIAL E METODOS

Foram coletadas, em recipientes estéreis, 20 amostras de 100 mL de leite no momento da comercialização pelas ruas da cidade de Castro Alves, em alguns casos o produto estava sendo transportado em bicicletas e motocicletas. Os vendedores foram comunicados, no momento da compra, dos objetivos da pesquisa.

Após a coleta, o leite foi acondicionado em caixas isotérmicas contendo barras de gelo reciclável e posteriormente levadas ao refrigerador. No dia seguinte foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), campus Lauro de Freitas (Bahia) onde foram realizadas as análises microbiológicas para contagem de Coliformes Totais e Coliformes Fecais pela técnica número mais provável (NMP); contagem direta em placas e isolamento de *Staphylococcus aureus* e detecção direta de *Salmonella* (SILVA *et al.*, 2001).

Adotou-se como referencial para a análise dos resultados, os padrões microbiológicos estabelecidos pelo Ministério da Saúde (RDC nº12, 02/01/2001) para o leite pasteurizado tipo C, pois além de constituir o produto de maior consumo em nosso meio, os padrões exigidos para esse tipo de leite apresentam menor rigor que os estabelecidos pelo tipo A e B, uma vez que a legislação vigente não determina valores microbiológicos para o leite *in natura*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas contagens de coliformes totais e fecais, todas as 20 amostras (100%) obtiveram positividade em todos os tubos e em todas as diluições utilizadas, com produção de gás no caldo Verde Brilhante com 2% de Bile (VBB) e caldo *Escherichia coli* (EC), respectivamente. Assim, tanto para coliformes totais como para coliformes fecais cada amostra obteve resultado e" 2400 NMP/mL.

A RDC Nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, estabelece para o leite tipo C, um limite máximo de 4 NMP/mL para coliformes fecais (BRASIL, 2001). Desta forma observa-se que os valores encontrados são bastante elevados em relação ao que determina a legislação.

Badine *et al.*, (1996) registraram a ocorrência de 11 amostras (18,3%) contaminadas por bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes fecais ao analisarem 60 amostras de leite *in natura* comercializado nos municípios de Botucatu e São Manuel/SP. Os resultados encontrados nesse trabalho também foram superiores aos obtidos por Queiroz (1995), que analisando o leite *in natura* distribuído nos municípios de Juquitiba/BA e Itapeçerica da Serra/SP verificou a ocorrência de 39 amostras (65,0%) contaminadas pelos referidos micro-organismos.

O número elevado de amostras contaminadas era de certa forma esperada, pois além de não sofrer qualquer tipo de tratamento térmico, o leite era mantido à temperatura ambiente por um longo período de tempo.

Quanto a análise da presença de *Escherichia coli*, 6 amostras apresentaram colônias típicas desta bactéria (colônias esverdeadas com brilho metálico a luz refletida, com o centro negro azulado a luz transmitida). Realizaram-se as provas bioquímicas de INVIC, e confirmou-se o isolamento de *E. coli*.

Tabela 1 - Isolamento de *E. coli* em amostras de leite *in natura* comercializadas na cidade de Castro Alves/BA, 2011.

<i>E.coli</i>	Nº de amostras	%
Amostras negativas	14	70
Amostras positivas	06	30
TOTAL	20	100

Os resultados estão descritos na Tabela 1.

Catão e Ceballos (2001) realizaram pesquisa de coliformes totais, coliformes fecais e *E. coli* em 45 amostras de leite *in natura* de diferentes produtores, onde foi encontrada uma elevada incidência de contaminação em todas as amostras.

A incidência de coliformes e de *E. coli* no leite *in natura* é bem documentada, não só pela associação com contaminação de origem fecal como também pelas alterações que seu desenvolvimento pode promover. Devido ao fato que os coliformes crescem muito rapidamente em resíduos de leite e equipamentos úmidos, constituindo-se numa das principais fontes de contaminação, fica difícil fazer uma associação entre sua presença e o indício de contaminação fecal direta. Por outro lado, contagens baixas de coliformes não significam necessariamente boa limpeza e desinfecção dos equipamentos, porém, o contrário, quando essas contagens com frequência excedem a 100 NMP/mL, é consenso que as condições higiênicas de obtenção do leite foram insatisfatórias (PRATA, 2001).

Quanto à pesquisa de *Staphylococcus aureus*, 17 amostras (85 %) tiveram crescimento característico em Agar Baird Parker (BP). Dessas, todas as amostras obtiveram características morfotintoriais indicativa de *Staphylococcus*, além da prova da catalase positiva. Entretanto, apenas 6 amostras obtiveram prova de coagulase positiva. A Tabela 2 mostra os valores encontrados na contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva por amostra.

Tabela 2 - Contagens de *Staphylococcus coagulase* positiva em amostras de leite *in natura*, comercializadas na cidade de Castro Alves/BA, 2011.

<i>Staphylococcus coagulase</i> -positiva (UFC/mL)	Nº de amostras	%
1,0x10 ⁴ ----- 1,0x10 ⁵	2	10
1,0x10 ⁵ ----- 1,0x10 ⁶	2	10
1,0x10 ⁶ ----- 1,0x10 ⁷	2	10
TOTAL	6	30

A RDC Nº 12 não estabelece valores limite para *Staphylococcus coagulase* positiva no leite tipo C. Entretanto, segundo Freitas *et al.* (2009) são necessárias cerca de 10⁵ a 10⁶ células por grama do alimento para que a toxina seja acumulada em níveis de causar

intoxicação. Isso significa dizer que das 6 amostras confirmadas para esse micro-organismo, 4 (20%) apresentam condições que favorecerão a ocorrência de intoxicação.

Badine *et al.* (1996) relataram a ocorrência de 30 amostras (50%) contaminadas por *Staphylococcus coagulase* positiva e Queiroz (1995) constatou a ocorrência de 24 amostras (40%) contaminadas pelo mesmo micro-organismo, demonstrando que o presente estudo obteve uma menor contaminação para esse patógeno. Entretanto em nosso estudo, 11 amostras com características morfotintoriais e prova da catalase positiva, apresentaram prova da coagulase negativa, se enquadrando no grupo dos *Staphylococcus coagulase* negativa.

Esse alto índice de *Staphylococcus coagulase* negativa poderia não ter relevância alguma se publicações atuais não revelassem a ocorrência de genes toxigênicos em cepas desses micro-organismos, levando a uma maior preocupação acerca dessas bactérias, uma vez que no Brasil não existe legislação específica para *Staphylococcus coagulase* negativa em nenhum tipo de alimento (FREITAS *et al.*, 2009).

Para *Salmonella*, a análise microbiológica revelou 5 (25%) amostras de leite contaminadas por este micro-organismo (Tabela 3). Estes dados estão em desacordo com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde, que determinam a ausência deste patógeno em amostras de Leite tipo C (BRASIL, 2001).

Tabela 3 - Isolamento de *Salmonella* spp. em amostras de leite *in natura* comercializado na cidade de Castro Alves/BA- 2011.

<i>Salmonella</i> spp.	Nº de amostras	%
Amostras negativas	15	75
Amostras positivas	05	25
TOTAL	20	100

Resultados encontrados por Nero *et al.* (2004), evidenciaram que todas as amostras de leite testadas (n = 210) foram negativas para *Salmonella*. Entretanto o resultado encontrado na pesquisa pode ter ocorrido por influência da presença de antimicrobianos e praguicidas no alimento, sendo que estes componentes podem ter inibido o crescimento deste patógeno.

Ávila e Gallo (1996) também encontraram resultados negativos para *Salmonella* ao avaliarem 19 amostras de leite cru comercializados no município de Piracicaba/SP.

Segundo Miller (2008) essa contaminação está diretamente relacionada à qualidade higiênico-sanitária em que o leite foi obtido, processado e/ou conservado.

A Tabela 4 resume os microrganismos encontrados por amostra de leite *in natura* analisada.

Tabela 4 - Frequência e tipos de micro-organismos encontrados nas amostras de leite *in natura*, comercializadas na cidade de Castro Alves/BA, 2011.

Amostra	CT	CF	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S.aureus</i>
F1	X	X	X	X	X
F2	X	X	X		
F3	X	X			
F4	X	X			
F5	X	X		X	
F6	X	X			
F7	X	X			X
F8	X	X		X	
F9	X	X			
F10	X	X	X		X
F11	X	X			X
F12	X	X		X	X
F13	X	X	X	X	X
F14	X	X			
F15	X	X			
F16	X	X			
F17	X	X	X		
F18	X	X		X	
F19	X	X			
F20	X	X			

CT= COLIFORMES TOTAIS; CF= COLIFORMES FECAIS.

De um modo geral, as amostras F1 e F13 apresentaram pior qualidade microbiológica, por terem sido encontrados todos os micro-organismos em estudo e em quantidades superiores ao que é estipulado pela legislação brasileira. Nenhuma amostra de leite *in natura* apresentou características microbiológicas dentro dos padrões legais estabelecidos pelo Ministério da Saúde para o leite pasteurizado tipo C. Potencialmente, a presença dos coliformes encontrados no leite *in natura* é tomada como indicadora de condições higiênicas inadequadas, principalmente durante a ordenha, colocando em risco o produto obtido pela possibilidade da coexistência de espécies patogênicas, como foi comprovado em 5 amostras onde se isolou a *Escherichia coli*.

Sabe-se que todos os micro-organismos envolvidos nesse estudo são mesófilos e tal contaminação pode ser minimizada se o leite for submetido à fervura, por exemplo. Porém, parte da população consome o leite *in natura*, sem submetê-lo a qualquer tratamento térmico. Miller (2008) realizou uma pesquisa em Vitória/ES, onde 31,6% dos entrevistados (121/382) responderam que consomem o leite *in natura* sem ferver ou que eventualmente o ferverem. Além disso, a fervura desse leite somente minimiza o risco de transmissão de patógenos, não o excluindo totalmente. O processo de fervura elimina a microbiota vegetativa patogênica e, a distribuição de calor pode não atingir a relação tempo/temperatura desejada de maneira uniforme, comprometendo a eficácia do processo (MILLER, 2008).

Para minimizar a deterioração do leite, bem como a proliferação microbiana, o leite deve ser

refrigerado a uma temperatura de 4°C em um período de no máximo 3 horas após a ordenha, visto que a temperatura de armazenamento do leite constitui um dos fatores mais críticos para multiplicação dos micro-organismos (TRONCO, 2003).

Além dessa, várias outras medidas podem ser tomadas no intuito de diminuir os níveis de contaminação do leite *in natura*, começando pela avaliação do estado de saúde e higienização da vaca (principalmente do úbere), o ambiente do estábulo e da sala de ordenha, os procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha, bem como os vasilhames onde o leite é acondicionado e utensílios que entram em contato com esse leite, a própria água utilizada na limpeza e as mãos do ordenhador. Esse, por sua vez, deve ser uma pessoa de hábitos higiênicos satisfatórios, vestir-se com roupas limpas, gozar de boa saúde e não ter ferimentos nas mãos que possam aportar agentes patogênicos (TRONCO 2003). Outra medida importante é a eliminação dos três primeiros jatos de leite que saem do úbere, pois podem conter uma determinada quantidade de micro-organismos por conta do contato com o meio externo. Todos esses itens são de elevada importância no que diz respeito à contaminação microbiana do leite *in natura* e que podem ser facilmente adotadas às práticas de ordenha manual sem aumento de custos para o produtor.

É de conhecimento de todos que a sociedade atual demanda cada vez mais por alimentos seguros, saudáveis e nutritivos. Não basta apenas dispor de alimentos em quantidade para abastecer a população, é necessário também que produtos, como o leite, tenham qualidade em todos os seus aspectos, sejam biológicos, sensoriais e físico-químicos. (MAFUD, *et al.*, 2007).

CONCLUSÃO

O consumo do leite cru está fortemente relacionado com a crença de que o produto é mais “forte”, puro e nutritivo. Além disso, apresenta um menor custo e muitas vezes a facilidade de poder ser entregue em casa. A maioria dos consumidores não considera sua ingestão um risco à saúde.

A qualidade microbiológica do leite *in natura* comercializado na cidade de Castro Alves/BA foi insatisfatória, pois as amostras avaliadas não atenderam aos padrões estabelecidos pela legislação, principalmente no que se refere à elevada contagem de coliformes fecais e a presença de *Salmonella* spp.

Considerando-se a dificuldade acerca da fiscalização e/ou controle higiênico-sanitário dos animais que estão envolvidos com a produção desse tipo de alimento, bem como do processo de obtenção, manipulação, conservação e comercialização desse produto, tais achados constituem-se um motivo de preocupação para saúde pública em virtude do risco representado pelo consumo desse leite sem tratamento térmico apropriado.

REFERENCIAS

- ÁVILA, C. R.; GALLO, C. R. Pesquisa de *Salmonella* spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “minas frescal” comercializado no município de Piracicaba-SP. **Sci. Agríc.**, Piracicaba, v. 53, n 1, Jan-Abr. 1996.
- BADINE, K.B. et al. Risco à saúde apresentado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Rev. de Saúde Pública**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 549-52, 1996.
- BRASIL. LEI Nº 1.283 de 18 de dezembro de 1950. Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 19 dez. 1950.
- BRASIL. DECRETO Nº. 30.691 de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 7 jul. 1952.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução-RDC, nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 de Janeiro de 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade, Qualidade de Leite Tipo A, Tipo B, Tipo C e Cru Refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 de Setembro de 2002.
- CATÃO, Raissa Mayer Ramalho; CEBALLOS, Beatriz Susana Ovruski. *Listeria* Spp., Coliformes Totais e *Fecais* e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 281-287, Set-Dez. 2001.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.
- FREITAS, M. F. L. et al. Detecção de genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de queijos coalhos. **Rev. Ciência Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 375-379, Abr-Jun. 2009.
- MAFUD, M. D. et al. **Não-conformidades na cadeia produtiva do leite: problemas institucionais**. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 45, 2007, Londrina. **Anais....Londrina,UEL**, jun.2007.
- MILLER, N.B. **Perfil do consumo de leite e derivados lácteos no município de Colatina – ES**. 2008.2 83p. Monografia (Especialização em Defesa e Vigilância Sanitária Animal) – Universidade Castelo Branco, São Paulo, 2008.
- MORENO, I. et al. Qualidade Microbiológica de leites pasteurizados produzidos no estado de São Paulo. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.13, p.56-61, 1999.
- NERO, L. A. et al. Perigos em leite não-pasteurizado comercializado no Brasil: *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* e resíduos químicos. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v.35, n. 3, Jul-Set. 2004.
- OLIVEIRA, A.J.; CARUSO, J.G.B.; **Leite: Obtenção e qualidade do produto fluido e derivados**. Piracicaba: FEALQ, 1996.
- PRATA, L. F. **Fundamento de ciência do leite**. São Paulo: Editora FUNEP/UNESP, 2001.
- QUEIROZ, José Cavalcante. **Avaliação sanitária do leite cru distribuído nos Municípios de Juitiba e Itapeverica da Serra, São Paulo - 1990-1992**. 1995. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública da USP, Universidade de São Paulo, São Paulo,1995.
- ROSA, Leonardo Souza; QUEIROZ, Maria Isabel. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios do APPCC. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n.2, p. 422-430, abr.-jun. 2007;
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ª ed. Revista e Ampliada. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
- TAMANINI, R. et al. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização do leite tipo “C” produzido na região do Norte do Paraná. **Semina: Ciênc. Agrár.**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, 2007.
- TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2ª Ed. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2003.